

Читать
онлайнRead
online

Мамонова И.А.¹, Кузянов Д.А.², Кошелева И.С.², Эрдниев Л.П.², Евсюкова А.С.^{3,4}, Широков А.А.^{1,3,4}, Матора Л.Ю.⁴, Гусев Ю.С.^{2,3,4}, Микеров А.Н.^{1,2}

Влияние модельных поллютантов, содержащихся в питьевой воде, на метаболическую активность клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека *HuTi-80*

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского», 410012, Саратов, Россия;

²Саратовский медицинский научный центр гигиены ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 410022, Саратов, Россия;

³ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», 410012, Саратов, Россия;

⁴Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук», 410012, Саратов, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. В настоящее время перспективным направлением исследований токсичности проб воды является скрининговый анализ на клеточных линиях человека.

Цель исследования — оценка влияния приоритетных загрязнителей питьевой воды на метаболическую активность клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека *HuTi-80*.

Материалы и методы. Объект исследования — стандартная культура клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека *HuTi-80*. Для оценки токсического действия хлорид-, сульфат- и нитрат-анионов на культуру клеток использовали натриевые соли: NaCl в концентрации от 100 до 10 000 мг/л, Na_2SO_4 — от 20 до 2000 мг/л, NaNO_3 — от 2 до 200 мг/л. Токсическое действие поллютантов на культуру клеток *HuTi-80* определяли с помощью МТТ-теста. Статистический анализ данных проводили с использованием программы Statistica 10 (Statsoft, США).

Результаты. В результате проведенного исследования по оценке влияния модельных поллютантов питьевой воды на метаболическую активность культуры клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека *HuTi-80* установлено дозозависимое действие хлорид-, сульфат- и нитрат-ионов, проявляющееся в снижении метаболической активности клеток.

Ограничения исследования. Применение данного метода исследования возможно только в условиях специально оборудованной лаборатории при наличии квалифицированного персонала.

Заключение. Полученные данные могут лечь в основу разработки тест-системы, базирующейся на применении культуры клеток кишечника человека, для оценки токсичности проб питьевой воды.

Ключевые слова: источники питьевого водоснабжения; биотестирование; культура клеток; *HuTi-80*

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Мамонова И.А., Кузянов Д.А., Кошелева И.С., Эрдниев Л.П., Евсюкова А.С., Широков А.А., Матора Л.Ю., Гусев Ю.С., Микеров А.Н. Влияние модельных поллютантов, содержащихся в питьевой воде, на метаболическую активность клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека *HuTi-80*. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(3): 365–371. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-3-365-371> <https://elibrary.ru/uoszss>

Для корреспонденции: Гусев Юрий Сергеевич, e-mail: yuran1989@yandex.ru

Участие авторов: Мамонова И.А. — концепция и дизайн исследования, написание текста, ответственность за целостность всех частей статьи; Кузянов Д.А., Кошелева И.С. — сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Эрдниев Л.П. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Евсюкова А.С. — сбор и обработка материала; Широков А.А. — написание текста, редактирование; Гусев Ю.С. — концепция и дизайн исследования; Микеров А.Н. — утверждение и редактирование окончательного варианта статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 17.06.2024 / Принята к печати: 03.12.2024 / Опубликовано: 31.03.2025

Irina A. Mamonova¹, Dmitry A. Kuzyanov², Irina S. Kosheleva², Leonid P. Erdniev², Arina S. Evzyukova^{3,4}, Alexander A. Shirokov^{1,3,4}, Larisa Yu. Matora⁴, Yuri S. Gusev^{2,3,4}, Anatoly N. Mikerov^{1,2}

Influence of model pollutants contained in drinking water on the metabolic activity of the human duodenal adenocarcinoma cell line HuTu-80

¹Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation;

²Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation;

³N.G. Chernyshevsky Saratov National Research State University, Saratov, 410012, Russian Federation;

⁴Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre, Saratov, 410012, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Currently, a promising direction in water sample toxicity research involves conducting screening analysis on human cell lines.

The purpose of this study is to assess the impact of model drinking water pollutant on the metabolic activity of the human duodenal adenocarcinoma cell line HuTu-80 to justify its further use as a test object for evaluation the toxicity of drinking water samples.

Materials and methods. The research object is the standard culture of the duodenal adenocarcinoma cell line HuTu-80. To assess the toxic effect of chloride, sulfate, and nitrate ions on the cell culture, their sodium salts were used: NaCl in concentrations ranging from 100 to 10000 mg/L, Na₂SO₄ from 20 to 2000 mg/L, and NaNO₃ from 2 to 200 mg/L. The toxic effects of pollutants on the HuTu-80 cell culture were determined using the MTT assay. Statistical analysis of the data was conducted using the Statistica 10 software (Statsoft, USA).

Results. The study evaluating the influence of model drinking water pollutants on the metabolic activity of the HuTu-80 duodenal adenocarcinoma cell culture revealed a dose-dependent effect of chloride, sulfate, and nitrate ions, resulting in a decrease in their metabolic activity.

Limitations. The application of this research method is feasible only in a specially equipped laboratory with qualified personnel.

Conclusion. The data obtained from this study may serve as a basis for the development of a test system utilizing the human intestinal cell culture to assess the toxicity of drinking water samples.

Keywords: sources of drinking water; biotesting; cell culture; HuTu-80

Compliance with ethical standards. The study does not require a conclusion of the Biomedical Ethics Committee.

For citation: Mamonova I.A., Kuzyanov D.A., Kosheleva I.S., Erdniev L.P., Evzyukova A.S., Shirokov A.A., Matora L. Yu., Gusev Yu.S., Mikerov A.N. Influence of model pollutants contained in drinking water on the metabolic activity of the human duodenal adenocarcinoma cell line HuTu-80. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(3): 365–371. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-3-365-371> <https://elibrary.ru/uoszs> (In Russ.)

For correspondence: Yuriy S. Gusev, e-mail: yuran1989@yandex.ru

Contribution: Mamonova I.A. — concept and design of the study, writing the text, responsibility for the integrity of all parts of the article; Kuzyanov D.A., Kosheleva I.S. — collection and processing of material, writing text, editing; Erdniev L.P. — concept and design of the study, writing the text; Evzyukova A.S. — collection and processing of material; Shirokov A.A. — writing the text, editing; Gusev Yu.S. — concept and design of the study; Mikerov A.N. — approval and edition of the final version of the article.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: June 17, 2024 / Accepted: December 3, 2024 / Published: March 31, 2025

Введение

По имеющимся данным, примерно 10% жителей Российской Федерации вынужденно используют для хозяйственно-питьевых нужд воду, не соответствующую санитарно-гигиеническим нормативам¹. Присутствие загрязняющих веществ в поверхностных водоисточниках связывают с постоянно растущей антропогенной нагрузкой [1]. В то же время загрязнение подземных вод определяется минеральным составом водоносных горизонтов и зачастую не зависит от хозяйственной деятельности человека [2].

Основным методом санитарно-гигиенической оценки подаваемой населению питьевой воды является физико-химический анализ, позволяющий выявить присутствие загрязнителей и установить их концентрации. Недостаток данного метода заключается в невозможности определения всего спектра присутствующих в воде химических веществ. Перечень загрязнителей может содержать сотни и даже тысячи наименований, и большая их часть не относится к ос-

новным показателям, отражающим качество и безопасность питьевой воды^{2,3}.

В настоящее время в практическую работу лабораторий, занимающихся оценкой санитарно-гигиенического состояния водоисточников, внедряется процедура биотестирования. Перспективным направлением может быть использование в качестве тест-объектов культур клеток человека [3].

Известно, что первостепенный метаболизм поступающих при пероральном введении веществ, в том числе и содержащихся в питьевой воде, происходит в пищеварительном тракте. Проникающие извне загрязнители, а также их метаболиты воздействуют на энтероциты, что может способствовать их повреждению и, как следствие, развитию эндогенной интоксикации организма вследствие нарушения проницаемости кишечника [4]. Перспективным

² МП 2.1.4.0176–20.2.1.4 Организация мониторинга обеспечения населения качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения. Утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 30 апреля 2020 г.

³ ГОСТ Р 51232–98. Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля. М.: Стандартинформ, 2008.

¹ Охрана окружающей среды в России. 2022: Стат. сб. / Росстат. 0-92 М., 2022. 115 с.

направлением является проведение скрининговых исследований токсического действия поллютантов на клеточные линии, полученные из пищеварительной системы человека. Используемые в настоящее время методы оценки терапевтического действия лекарственных препаратов на клеточные линии кишечника человека становятся во многих случаях альтернативой экспериментальным исследованиям на лабораторных животных, поскольку не имеют этических ограничений и позволяют экстраполировать полученные результаты на человека [5–8]. В наших исследованиях в качестве тест-объекта применялась клеточная линия аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80. Эта модель может быть использована для оценки токсичности загрязняющих веществ, содержащихся в воде.

Цель исследования — оценка влияния приоритетных загрязнителей питьевой воды на метаболическую активность клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80.

Материалы и методы

Выполнен ретроспективный анализ 765 результатов санитарно-химических исследований образцов воды, отобранных из поверхностных (328 проб) и подземных (438 проб) источников водоснабжения населения Саратовской области в период с 2013 по 2023 г. Критерием выбора исследуемых водоисточников служило отсутствие предварительной водоподготовки перед подачей воды населению. Анализ образцов питьевой воды выполнен на базе Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». Перечень анализируемых санитарно-химических показателей, а также значения их предельно допустимых концентраций согласуются с требованиями СанПиН 1.2.3685–21⁴, предъявляемыми к качеству питьевой воды.

Объектом исследования служила стандартная культура клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80 (источник получения клеточного материала — центр коллективного пользования «Коллекция культур клеток позвоночных» Института цитологии РАН, Санкт-Петербург). Работа с культурами клеток проводилась на базе ЦКП «Симбиоз» (Саратов) и лаборатории иммунохимии ИБФРМ РАН в рамках выполнения темы ГЗ № 121031100266-3 и НИОКТР № 121021600275-1. Клетки HuTu-80 культивировали в полной среде DMEM (Capricorn scientific, Германия), добавляя 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (Capricorn scientific, Германия), 1% пенициллин-стрептомицина (Capricorn scientific, Германия).

Для оценки токсического действия хлорид-, сульфат- и нитрат-анионов на культуры клеток использовали их натриевые соли: NaCl (АО «Вектон», Санкт-Петербург), Na₂SO₄ (АО «Вектон», Санкт-Петербург), NaNO₃ (АО «Вектон», Санкт-Петербург). Массовые концентрации включённых в исследование солей составили: 100; 1000; 10 000 мг/л для хлорида натрия (NaCl), 20; 200; 2000 мг/л для сульфата натрия (NaSO₄) и 2; 20; 200 мг/л для нитрата натрия (NaNO₃).

Токсическое действие поллютантов на культуру клеток определяли с помощью МТТ-теста. Для этого 200 мкл суспензии, содержащей $1 \cdot 10^4$ клеток/мл, инокулировали в лунки 96-луночного планшета и инкубировали при температуре плюс 37 °C и при 5%-м содержании CO₂ в инкубаторе (Binder, Германия) в течение суток до достижения 60%-го заполнения монослоем дна лунок. После этого культуральную жидкость сливали и вносили в лунки 200 мкл соответствующей среды, содержащей необходимое количество исследуемого химического вещества. В качестве контроля использовали полную питательную среду, не содержащую поллютанта. Отрицательным контролем служили лунки с полной питательной средой, не содержащие клеточной суспензии. После

24 ч инкубации культуральную жидкость сливали, добавляли 200 мкл 1%-го раствора МТТ-реактива (тиазолиловый синий тетразолия бромид) (Sigma-Aldrich, США) и помещали на 60 мин в CO₂-инкубатор для создания стандартных условий культивирования. Для экстрагирования формазана, образовавшегося при восстановлении тиазолилового красителя NADP-зависимыми оксидоредуктазными ферментами, удаляли из лунок среду, вносили 200 мкл диамилсульфоксида (АО «Вектон», Россия) и инкубировали планшет в течение 15 мин. Оптическую плотность элюата измеряли на микропланшетном ридере Униплан (Пикон, Россия) при длинах волн 540 и 690 нм. Из полученных значений оптической плотности вычитали результаты отрицательного контроля.

Индекс цитотоксичности (IC), отражающий процент снижения метаболической активности клеток, рассчитывали по формуле (1):

$$IC = \frac{OP_o - B}{OP_k} \cdot 100, \quad (1)$$

где OP_k — оптическая плотность элюата контрольной группы; B — оптическая плотность пустой лунки; OP_o — оптическая плотность элюата опытной группы.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы Statistica 10 (Statsoft, США). Для проверки нормальности распределения использовали *W*-тест Шапиро — Уилка, а также коэффициенты асимметрии и эксцесса. Данные, приведённые в исследовании, представлены в виде медианы (*Me*) и интерквартильного размаха (Q_{25} ; Q_{75}). Для оценки различий между несколькими несвязанными группами применяли непараметрический ранговый дисперсионный анализ Краскела — Уоллиса (*H*-тест) (Kruskal — Wallis ANOVA), для их попарного сравнения — критерий Ньюмена — Кейлса. Для сравнения нестандартных по содержанию анионов солей проб питьевой воды применяли двусторонний критерий Фишера. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязи исследуемых показателей использовали методы корреляционно-регрессионного анализа и нелинейной регрессии.

Результаты

Анализ результатов санитарно-химических исследований проб питьевой воды показал, что общее число нестандартных проб с выявленным превышением значения предельно допустимой концентрации (ПДК) хотя бы по одному из исследуемых показателей составило 362 (47,3% от общего числа исследуемых образцов). В большинстве случаев регистрировали такие загрязнители источников водоснабжения населения, как ионы нитратов, хлоридов и сульфатов. Превышение содержания ионов нитратов зафиксировано в 55 пробах (15,19% от общего числа нестандартных проб); ионов хлоридов — в 49 пробах (13,54% от общего числа нестандартных проб); ионов сульфатов — в 35 пробах (9,67% от общего числа нестандартных проб).

Чаще всего в нестандартных по содержанию нитрат-ионов ($p < 0,001$), хлорид-ионов ($p < 0,001$) и сульфат-ионов ($p < 0,001$) пробах питьевой воды регистрировалось превышение концентраций анионов в пределах значений, соответствующих 1–2 ПДК, что соизмеримо с диапазоном концентраций от 45 до 90 мг/л для NO₃[–], от 350 до 700 мг/л для Cl[–], от 500 до 1000 мг/л для SO₄^{2–}. С учётом этих результатов для дальнейшего исследования был подобран ряд концентраций каждой соли, включающий реально выявленные значения. Так, диапазон концентраций нитрата натрия представлен значениями 2–200 мг/л, хлорида натрия — 100–10 000 мг/л, сульфата натрия — 20–2000 мг/л. Содержание нитрат-ионов в ряду концентраций находилось в диапазоне массовой концентрации от 1,5 до 146 мг/л, хлорид-ионов — от 60,7 до 6068 мг/л, сульфат-ионов — от 13,5 до 1352,2 мг/л (табл. 1). Выбранные диапазоны позволили оценить влияние исследуемых ионов на стандартную культуру клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80.

⁴ СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».

Таблица 1 / Table 1

Массовые концентрации ионов солей натрия в модельных образцах
Mass concentrations of sodium salt ions in model samples

Образец Sample	Массовая концентрация, мг/л Mass concentration, mg/L		
	соль натрия sodium salt	катионы cations	анионы anions
Нитрат натрия / Sodium nitrate NaNO ₃	200	54	146
	20	5.4	14.6
	2	0.5	1.5
Хлорид натрия / Sodium chloride NaCl	10 000.0	3932.0	6068.0
	1000.0	393.2	606.8
	100.0	39.3	60.7
Сульфат натрия / Sodium sulfate Na ₂ SO ₄	2000.0	647.8	1352.2
	200.0	64.8	135.2
	20.0	6.5	13.5

Исследование влияния анионов солей натрия на культуры клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80 выявило, что воздействие нитрата натрия в концентрации 2 мг/л приводило к статистически значимому снижению метаболической активности исследуемой культуры клеток ($p < 0,001$), при этом индекс цитотоксичности определялся на уровне 53,87 (36,75; 66,24). Увеличение концентрации поллютанта до 20 и 200 мг/л приводило к дозозависимому усилению наблюдаемого эффекта: значения индекса цитотоксичности составили 63,3 (56,79; 72,55) и 87,27 (79,71; 90,66) соответственно. Статистически значимое ($p < 0,001$) снижение метаболической активности кле-

ток также наблюдалось после воздействия хлорида натрия и сульфата натрия. Индекс цитотоксичности при воздействии NaCl в концентрациях 100; 1000; 10 000 мг/л составил 29,5 (15,94; 49,66), 51,51 (44,14; 62,98), 100,58 (100,23; 101,67) соответственно. Индекс цитотоксичности для концентраций Na₂SO₄ 20; 200; 2000 мг/мл составил 9,67 (–15,02; 36,38), 27,27 (7,47; 47,38), 101,19 (100,28; 101,91) соответственно (табл. 2).

Таким образом, установлен дозозависимый характер действия солей натрия на стандартную культуру клеток человека HuTu-80. На основании проведенного регрессионного анализа подобраны математические модели, описывающие

Таблица 2 / Table 2

Влияние солей натрия на культуру клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80
The influence of sodium salts on HuTu-80 duodenal adenocarcinoma cell cultures

Образец Sample	Массовая концентрация, мг/л Mass concentration, mg/L	Показатель оптической плотности элюата формазана, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75}) The optical density index of the formazan eluate, <i>Me</i> (Q_{25} ; Q_{75})	Индекс цитотоксичности The cytotoxicity index	Уровень статистической значимости <i>p</i> для критерия Ньюмена – Кейлса The significance level <i>p</i> for the Newman – Keuls test
Контрольная группа / Control group		0.605 (0.539; 0.749)	–	–
NaNO ₃	2	0.325 (0.252; 0.355)	53.87 (36.75; 66.24)	$p^K = 0,000113$
Нитрат натрия Sodium nitrate	20	0.240 (0.211; 0.281)	63.30 (56.79; 72.55)	$p^K = 0,000106$
$n = 23$, $H = 81.48$; $p < 0.001$	200	0.111 (0.087; 0.138)	87.27 (79.71; 90.66)	$p^K = 0,000144$ $p^\wedge = 0,002989$ $p^{\wedge\wedge} = 0,022805$
NaCl	100	0.439 (0.371; 0.503)	29.50 (15.94; 49.66)	$p^K = 0,000115$
Хлорид натрия Sodium chloride	1000	0.278 (0.245; 0.373)	51.51 (44.14; 62.98)	$p^K = 0,000106$ $p^* = 0,032972$
$n = 23$, $H = 80.17$; $p < 0.001$	10 000	0.025 (0.020; 0.026)	100.58 (100.23; 101.67)	$p^K = 0,000144$ $p^* = 0,000106$ $p^{**} = 0,000116$
Na ₂ SO ₄	20	0.561 (0.431; 0.680)	9.67 (–15.02; 36.38)	$p^K = 0,023977$
Сульфат натрия Sodium sulfate	200	0.431 (0.373; 0.522)	27.27 (7.47; 47.38)	$p^K = 0,000622$
$n = 23$, $H = 61.58$, $p < 0.001$	2000	0.021 (0.018; 0.024)	101.19 (100.28; 101.91)	$p^K = 0,000144$ $p^\# = 0,000106$ $p^{\#\#} = 0,000113$

Примечание. n – количество проб; H – критерий для непараметрического рангового дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса; Me – медиана; Q_{25} , Q_{75} – 25%-й и 75%-й квартили; p – уровень статистической значимости по отношению к: p^K – контрольной группе, p^\wedge – группе, подвергающейся воздействию нитрата натрия в концентрации 2 мг/л, $p^{\wedge\wedge}$ – группе, подвергающейся воздействию нитрата натрия в концентрации 20 мг/л, p^* – группе, подвергающейся воздействию хлорида натрия в концентрации 100 мг/л, p^{**} – группе, подвергающейся воздействию хлорида натрия в концентрации 1000 мг/л, $p^\#$ – группе, подвергающейся воздействию сульфата натрия в концентрации 20 мг/л, $p^{\#\#}$ – группе, подвергающейся воздействию сульфата натрия в концентрации 200 мг/л.

Note: n – number of samples; H – Kruskal – Wallis H test for non-parametric rank-based analysis of variance; Me – median; Q_{25} , Q_{75} – 25th and 75th percentiles; p – level of statistical significance in relation to: p^K – control group, p^\wedge – group exposed to sodium nitrate at a concentration of 2 mg/L, $p^{\wedge\wedge}$ – group exposed to sodium nitrate at a concentration of 20 mg/L, p^* – group exposed to sodium chloride at a concentration of 100 mg/L, p^{**} – group exposed to sodium chloride at a concentration of 1000 mg/L, $p^\#$ – group exposed to sodium sulfate at a concentration of 20 mg/L, $p^{\#\#}$ – group exposed to sodium sulfate at a concentration of 200 mg/L.

Таблица 3 / Table 3

Корреляционно-регрессионный анализ взаимосвязи массовой концентрации ионов солей натрия и значения индекса цитотоксичности (клеточная линия HuTu-80)

Correlation-regression analysis of the relationship between the mass concentration of sodium salt ions and the cytotoxicity index (HuTu-80 cell line)

Ион Ions	Коэффициент корреляции Пирсона Pearson correlation coefficient <i>R</i>	Уровень статистической значимости различий Statistical significance level of differences <i>p</i>	Коэффициент детерминации Coefficient of determination <i>r</i> ²	Средняя ошибка аппроксимации Mean approximation error A, %	Функция The function
Na ⁺	0.636	0.072213	0.404	74.1	$y = 41.98466 + 0.08929x$
NO ₃ ⁻	0.981	0.000001	0.981	3.9	$y = 56.72944 + 0.21135x$
Cl ⁻	0.995	0.000001	0.950	14.4	$y = 36.55611 + 0.01068x$
SO ₄ ²⁻	0.995	0.000001	0.990	22.2	$y = 13.38624 + 0.06528x$

Примечание. *y* — индекс цитотоксичности; *x* — массовая концентрация иона.Note: *y* — cytotoxicity index; *x* — mass concentration of the ion.

зависимость цитотоксического эффекта от концентраций исследуемых токсических веществ. Для нитрата натрия (уравнение 2), хлорида натрия (уравнение 3) и сульфата натрия (уравнение 4) экспоненциальная функция имеет вид:

$$y = 0,3832 \cdot e^{-6,373x} \quad (r^2 = 0,7658), \quad (2)$$

$$y = 0,4713 \cdot e^{-0,296x} \quad (r^2 = 0,9811), \quad (3)$$

$$y = 0,5955 \cdot e^{-1,672x} \quad (r^2 = 0,9999), \quad (4)$$

где *x* — концентрация исследуемого химического вещества (мг/л); *y* — показатель эффекта (оптическая плотность элюата формазана).

Значение коэффициента детерминации (*r*²) для уравнений 3 и 4 превышает 0,95, что свидетельствует о высокой степени статистической значимости. Это подтверждает надёжность оценки регрессионного уравнения. Для уравнения 2 значение коэффициента детерминации находится в диапазоне от 0,95 до 0,6, что указывает на приемлемость предложенной модели.

Проведение корреляционного анализа позволило определить влияние катионов и анионов исследуемых солей на возникновение цитотоксического эффекта по отношению к культуре клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80. Полученные данные представлены в табл. 3. Проанализирована связь массовой концентрации ионов натрия и значения индекса цитотоксичности после воздействия модельных химических веществ на линию клеток HuTu-80.

Определена умеренная связь (*r* = 0,636) массовой концентрации ионов натрия, содержащихся в исследуемых солях, и индекса цитотоксичности на клетках линии HuTu-80. Однако отсутствие статистической значимости (*p* > 0,05) указывает на то, что ионы натрия, входящие в состав химических веществ в качестве катиона, не оказывают влияния на формирование токсического эффекта, проявляющегося в снижении метаболической активности культуры клеток. При этом установленная весьма высокая связь массовой концентрации сульфат-иона (*r* = 0,995; *p* < 0,05), хлорид-иона (*r* = 0,995; *p* < 0,05), нитрат-иона (*r* = 0,981; *p* < 0,05) и индекса цитотоксичности указывает на влияние исследуемых анионов на формирование токсических эффектов. Как видно из табл. 3, значение коэффициента детерминации для сульфат-ионов составило 0,99, для хлорид-ионов — 0,95, для нитрат-ионов — 0,981. Таким образом, выбранные факторы обуславливают изменение изучаемого показателя на 99% в первом случае, на 95% — во втором и на 98,1% — в третьем. Результаты, приведённые в табл. 3, показывают, что модели значимы. С помощью полученных данных удалось составить уравнения линейной регрессии (уравнения 2–4), которые позволяют рассчитать индекс цитотоксичности после воз-

действия поллютанта на культуру клеток HuTu-80 в зависимости от изменения массовой концентрации аниона (в диапазоне концентраций, включённых в исследование).

Обсуждение

Известно, что минеральный состав воды определяется соотношением входящих в неё катионов и анионов. При этом основными анионами являются карбонаты (HCO₃⁻), хлориды (Cl⁻) и сульфаты (SO₄²⁻), которые, как правило, имеют природное происхождение [2]. Кроме того, могут присутствовать соли нитратов (NO₃⁻), концентрация которых, как правило, незначительна, однако под влиянием антропогенного фактора, в частности избыточного и не всегда обоснованного использования минеральных удобрений в сельском хозяйстве, их содержание в водоисточнике может увеличиваться до сотен и даже тысяч мг/л [9].

В результате установлено, что ионы нитратов, хлоридов и сульфатов являются наиболее часто выявляемыми поллютантами поверхностных и подземных источников питьевого водоснабжения. При этом обнаруженные превышения концентраций нитрат-ионов находились в диапазоне от 1 до 9 ПДК, хлорид-ионов — от 1 до 10 ПДК, сульфат-ионов — от 1 до 4 ПДК. Данные настоящего исследования по оценке влияния основных поллютантов, содержащихся в питьевой воде, на метаболическую активность культур клеток пищеварительной системы человека, согласуются с результатами, ранее полученными в нескольких регионах Российской Федерации, в том числе на территории Саратовской области [10–17].

В настоящее время широко обсуждается применение культур клеток для оценки токсичности проб воды. Во многих исследованиях показано, что клеточные линии, используемые в качестве тест-объектов при биосенсорировании, позволяют обнаружить широкий спектр токсичных веществ, в том числе тяжёлые металлы, промышленные химикаты, фармацевтические препараты и химические смеси в сточных водах с изначально высокими концентрациями содержащихся в них загрязнителей [18–22]. В качестве тест-объектов используются клетки как человека, так и животных. Однако из-за отсутствия рецепторов в тканях не все клетки обладают чувствительностью ко всем типам химических веществ и, следовательно, подходят для проведения биотестирования. Использование клеточных линий, полученных из пищеварительной системы человека, в процедуре биотестирования позволяет имитировать клеточные реакции организма при потреблении воды, содержащей загрязняющие вещества. С учётом вышесказанного для оценки влияния основных поллютантов, содержащихся в питьевой воде, нами была выбрана клеточная линия аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80.

Основной аргумент, определяющий причинно-следственную связь изменений, возникших под действием какого-либо фактора, — установление статистически значимой функциональной зависимости переменных, характеризующих изучаемый показатель, от величины, определяющей силу воздействия, в данном случае — дозы [23]. Проведённое экспериментальное и математическое моделирование цитотоксического действия исследуемых поллютантов (нитрат-, хлорид-, сульфат-ионов) позволило определить однофакторный дозозависимый эффект действия на клеточную линию аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80, проявляющийся в снижении метаболической активности.

Заключение

В результате проведённого исследования по оценке влияния модельных поллютантов питьевой воды на метаболическую активность культур клеток пищеварительной системы человека выявлен дозозависимый характер действия хлорид-, сульфат- и нитрат-ионов, проявляющийся в снижении метаболической активности клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu-80.

Полученные нами результаты могут лечь в основу дальнейших исследований, направленных на разработку тест-системы, базирующейся на применении культуры клеток кишечника человека для оценки токсичности проб питьевой воды.

Литература

(п.п. 4–6, 8, 18–22 см. Reference)

1. Болехан В.Н., Субботина Т.И., Кривцов А.В., Сороколетова Е.Ф., Ишчук Ю.В. История контроля качества воды в России. К 150-летию первой земской санитарной станции и 100-летию создания Государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2023; 102(1): 93–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-1-93-98> <https://elibrary.ru/wiatwk>
2. Клычев Н.В., Гонтарев В.В., Цуркан С.Я., Воронков И.Р. Особенности распространения, условия формирования и практическое использование подземных вод для разных целей на территории Саратовской области. *Недра Поволжья и Прикаспия*. 2022; 105: 49–65. <https://doi.org/10.24412/1997-8316-2022-105-49-66> <https://elibrary.ru/frckyh>
3. Мамонова И.А., Кошелева И.С., Широков А.А., Гусев Ю.С., Микеров А.Н. Использование культуры клеток человека для оценки токсичности воды (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2023; 102(5): 509–15. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-509-515> <https://elibrary.ru/zifbgn>
7. Шохин И.Е., Раменская Г.В., Кулинич Ю.И., Савченко А.Ю. Изучение кишечной проницаемости в условиях *in vitro* на монослое эпителиальных клеток Caco-2 (обзор). *Сеченовский вестник*. 2012; (3): 31–5. <https://elibrary.ru/smhfar>
9. Харина Г.В., Алёшина Л.В. Анализ качества подземных вод Свердловской области. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(3): 221–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-221-228> <https://elibrary.ru/scvewt>
10. Абдулмуталимова Т.О., Рамазанов О.М., Алхасов А.Б., Газалиев И.М. Оценка качества подземных вод, используемых в хозяйственно-питьевых целях в Республике Дагестан. *Юг России: экология, развитие*. 2023; 18(2): 92–101. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2023-2-92-101> <https://elibrary.ru/abygei>
11. Дутова Е.М., Покровский Д.С., Парначев В.П., Покровский В.Д. Геохимические особенности подземных вод хозяйственно-питьевого назначения Республики Хакасия. *Вестник Томского государственного университета*. 2015; 394: 239–49. <https://elibrary.ru/tywiul>
12. Алферов И.Н., Яковенко Н.В. Характеристика качества питьевой воды для населения вододефицитного региона (на примере Оренбургской области). *Экология человека*. 2016; (7): 3–10. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2016-7-3-10> <https://elibrary.ru/uaqzj>
13. Токарева А.А., Кутлусурина Г.В., Аронova Ю.С. Роль подземных и поверхностных вод аридной зоны в преобразованиях природных комплексов на примере Астраханской области. *Проблемы региональной экологии*. 2019; (1): 78–83. <https://doi.org/10.24411/1728-323X-2019-11078> <https://elibrary.ru/zkemup>
14. Тихонова М.К., Медведева Л.Н. Организация биосферного мониторинга на внутренних водоемах юга России. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2022; (4): 524–34. <https://elibrary.ru/fvcskw>
15. Зайцева Н.В., Сбоев А.С., Клейн С.В., Вековщина С.А. Качество питьевой воды: факторы риска для здоровья населения и эффективность контрольно-надзорной деятельности Роспотребнадзора. *Анализ риска здоровью*. 2019; (2): 44–55. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.05> <https://elibrary.ru/ebsbcs>
16. Рисник Д.В., Барабаш А.Л. Связь заболеваемости населения Тамбовской области с минеральным составом питьевых артезианских вод. *Микроэлементы в медицине*. 2019; 20(2): 28–38. <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2019-20-2-28-38> <https://elibrary.ru/uxgzuh>
17. Гусев Ю.С., Иванов Д.Е., Эрдниев Л.П., Кузьянов Д.А., Кошелева И.С., Савина К.А. и др. Биотестирование для объективизации гигиенической оценки поверхностных и подземных источников водоснабжения. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(12): 1450–7. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1450-1457> <https://elibrary.ru/csmmog>
23. Селифонова Е.И., Чернова Р.К., Евсеева О.С. О катионном составе некоторых питьевых и природных вод. *Известия Саратовского университета. Новая Серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2013; (3): 46–50. <https://elibrary.ru/roojob>

References

1. Bolechan V.N., Subbotina T.I., Krivtsov A.V., Sorokoletova Ye.F., Ishchuk Yu.V. Historical aspects of water quality control in Russia. To the 150th anniversary of the first zemstvo sanitary station and the 100th anniversary of the establishment of the state sanitary epidemiological service (literature review). *Gigiena i Sanitariia (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(1): 93–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-1-93-98> <https://elibrary.ru/wiatwk>
2. Clychev N., Gontarev V., Tsurkan S., Voronkov I. Features of distribution, conditions of formation and practical use of groundwater for different purposes in the territory of the Saratov region. *Nedra Povolzh'ya i Prikaspiya*. 2022; 105: 49–65. <https://doi.org/10.24412/1997-8316-2022-105-49-66> <https://elibrary.ru/frckyh>
3. Mamonova I.A., Kosheleva I.S., Shirokov A.A., Gusev Yu.S., Mikerov A.N. Using human cell culture to assess the toxicity of water (literature review). *Gigiena i Sanitariia (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(5): 509–15. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-509-515> <https://elibrary.ru/zifbgn>
4. Husejinovic M.S., Bergant M., Jankovic S., Zizek S., Smajlovic A., Softic A., et al. Assessment of Pb, Cd and Hg soil contamination and its potential to cause cytotoxic and genotoxic effects in human cell lines (CaCo-2 and HaCaT). *Environ. Geochem. Health*. 2018; 40(4): 1557–72. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0071-6>
5. Vila L., Marcos R., Hernández A. Long-term effects of silver nanoparticles in Caco-2 cells. *Nanotoxicology*. 2017; 11(6): 771–80. <https://doi.org/10.1080/17435390.2017.1355997>
6. Keemink J., Bergström C.A.S. Caco-2 cell conditions enabling studies of drug absorption from digestible lipid-based formulations. *Pharm. Res*. 2018; 35(4): 74. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2327-8>
7. Shokhin I.E., Ramenskaya G.V., Kulnich Yu.I., Savchenko A.Yu. The study of intestinal permeability *in vitro* on a monolayer of epithelial Caco-2 cells (review). *Sechenovskii vestnik*. 2012; (3): 31–5. <https://elibrary.ru/smhfar>
8. Chugunova E., Gibadullina E., Matyitsky K., Bazarbayev B., Neganova M., Volcho K., et al. Diverse biological activity of Benzofuroxan/sterically hindered phenols hybrids. *Pharmaceuticals*. 2023; 16(4): 499. <https://doi.org/10.3390/ph1604499>
9. Kharina G.V., Alyoshina L.V. Analysis of the quality of groundwater in the Sverdlovsk region. *Gigiena i Sanitariia (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(3): 221–8. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-3-221-228> <https://elibrary.ru/scvewt>
10. Abdulmutalimova T.O., Ramazanov O.M., Alhasov A.B., Gazaliev I.M. The assessment of quality of groundwater used for drinking by the population of the Republic of Dagestan, Russia. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*. 2023; 18(2): 92–101. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2023-2-92-101> <https://elibrary.ru/abygei>
11. Dutova E.M., Pokrovsky D.S., Parnachev V.P., Pokrovsky V.D. Geochemical characteristics of groundwater for domestic and drinking purposes in the Republic of Khakasia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015; 394: 239–49. <https://elibrary.ru/tywiul>
12. Alferov I.N., Yakovenko N.V. Drinking water quality for the population of water-stressed region (on the example of the Orenburg region). *Ekologiya cheloveka*. 2016; (7): 3–10. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2016-7-3-10> <https://elibrary.ru/uaqzj>
13. Tokareva A.A., Kutlursurina G.V., Aronova Y.S. The role of surface and ground water of the arid zone in the transformation of natural complexes: a case study of the Astrakhan region. *Problemy regional'noi ekologii*. 2019; (1): 78–83. <https://doi.org/10.24411/1728-323X-2019-11078> <https://elibrary.ru/zkemup>
14. Tikhonova M.K., Medvedeva L.N. Organization of biosphere monitoring in the internal water bodits of the south of Russia. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie*. 2022; (4): 524–34. <https://elibrary.ru/fvcskw>

15. Zaitseva N.V., Sboev A.S., Kleyn S.V., Vekovshina S.A. Drinking water quality: health risk factors and efficiency of control and surveillance activities by Rospotrebnadzor. *Health Risk Analysis*. 2019; (2): 44–55. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.05> <https://elibrary.ru/sqdkxn>
16. Risnik D.V., Barabash A.L. Association between the mineral composition of Artician drinking water and the morbidity of the Tambov region population. *Mikroelementy v meditsine*. 2019; 20(2); 28–38. <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2019-20-2-28-38> <https://elibrary.ru/uxgzuh> (in Russian)
17. Gusev Yu.S., Ivanov D.E., Erdniev L.P., Kuzyanov D.A., Kosheleva I.S., Savina K.A., et al. Biotesting for the objectivization of the hygienic evaluation of the surface and underground drinking water sources. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2022; 101(12): 1450–7. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-12-1450-1457> <https://elibrary.ru/csmmog> (in Russian)
18. Haber A.L., Biton M., Rogel N., Herbst R.H., Shekhar K., Smillie C., et al. A single-cell survey of the small intestinal epithelium. *Nature*. 2015; 551(7680): 333–9. <https://doi.org/10.1038/nature24489>
19. Ma J.Y., Bao X.C., Tian W., Cui D.L., Zhang M.Y., Yang J. Effects of soil extractable metals Cd and Ni from an e-waste dismantling site on human colonic epithelial cells Caco-2: Mechanisms and implications. *Chemosphere*. 2022; 292: 133361. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133361>
20. Rapa S.F., Di Paola R., Cordaro M., Siracusa R., D'Amico R., Fusco R. Plumericin protects against experimental inflammatory bowel disease by restoring intestinal barrier function and reducing apoptosis. *Biomedicine*. 2021; 9(1): 67. <https://doi.org/10.3390/biomedicine9010067>
21. Friha I., Bradai M., Johnson D., Hilal N., Loukil S., Amor F.B., et al. Treatment of textile wastewater by submerged membrane bioreactor: *In vitro* bioassays for the assessment of stress response elicited by raw and reclaimed wastewater. *J. Environ. Manage.* 2015; 160: 184–92. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.06.008>
22. Minigalieva I., Bushueva T., Fröhlich E., Meindl C., Öhlinger K., Panov V., et al. Are *in vivo* and *in vitro* assessments of comparative and combined toxicity of the same metallic nanoparticles compatible, or contradictory, or both? A juxtaposition of data obtained in respective experiments with NiO and Mn₂O₃ nanoparticles. *Food Chem. Toxicol.* 2017; 109: 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.09.032>
23. Selifonova E.I., Chernova R.K., Yevseyeva O.S. About cationic composition of some drinking and natural waters. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2013; (3): 46–50. <https://elibrary.ru/roojob> (in Russian)

Сведения об авторах

Мамонова Ирина Александровна, канд. биол. наук, старший преподаватель каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СГМУ им. В.И. Разумовского, 410012, Саратов, Россия. E-mail: mamonova.83@rambler.ru

Кузыанов Дмитрий Андреевич, мл. науч. сотр. лаб. химико-биологического мониторинга качества воды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: dimakuzyanov2000@gmail.com

Коселева Ирина Сергеевна, мл. науч. сотр. лаб. химико-биологического мониторинга качества воды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: irishka-kosheleva@mail.ru

Эрднеев Леонид Петрович, канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. химико-биологического мониторинга качества воды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: leonid-erdniev@yandex.ru

Евсюкова Арина Сергеевна, инженер, ИБФРМ РАН, 410012, Саратов, Россия. E-mail: arina-evsyukova@mail.ru

Широков Александр Александрович, канд. биол. наук, руководитель ЦКП «Симбиоз» ФГБУН «ИБФРМ РАН», Саратов, Россия. E-mail: shirokov_a@ibppm.ru

Матора Лариса Юрьевна, доктор биол. наук, руководитель ФГБУН «ИБФРМ РАН», Саратов, Россия. E-mail: matora_l@ibppm.ru

Гусев Юрий Сергеевич, канд. биол. наук, зав. лаб. химико-биологического мониторинга качества воды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: yuran1989@yandex.ru

Микеров Анатолий Николаевич, доктор биол. наук, руководитель Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: mikerov@smnecg.ru

Information about the authors

Irina A. Mamonova, PhD (Biology), senior lecturer of the Department of microbiology, virology, and immunology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-3941-4334> E-mail: mamonova.83@rambler.ru

Dmitry A. Kuzyanov, junior researcher at the Laboratory of Chemical and Biological Monitoring of Water Quality, Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5070-4431> E-mail: dimakuzyanov2000@gmail.com

Irina S. Kosheleva, junior researcher at the Laboratory of Chemical and Biological Monitoring of Water Quality, Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1992-5305> E-mail: irishka-kosheleva@mail.ru

Leonid P. Erdniev, PhD (Medicine), researcher at the Laboratory of Chemical and Biological Monitoring of Water Quality, Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Saratov, 410022, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5187-7361> E-mail: leonid-erdniev@yandex.ru

Arina S. Evsyukova, engineer, N.G. Chernyshevsky Saratov National Research State University, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8725-8623> E-mail: arina-evsyukova@mail.ru

Alexander A. Shirokov, PhD (Biology), head of the Center for Collective Use “Symbiosis”, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4321-735X> E-mail: shirokov_a@ibppm.ru

Larisa Yu. Matora, DSc (Biology), head of the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5654-8292> E-mail: matora_l@ibppm.ru

Yuri S. Gusev, Ph.D., head of the Laboratory of Chemical and Biological Monitoring of Water Quality, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7379-484X> E-mail: yuran1989@yandex.ru

Anatoly N. Mikerov, DSc (Biology), head of the Saratov Hygiene Medical Research Center of the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-0670-7918> E-mail: mikerov@smnecg.ru