

Абрамова В.А., Вокина В.А., Соседова Л.М.

Исследование цитотоксичности экстракта торфяного дыма на культуре клеток 3T3-SV40

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Ангарск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. В последние десятилетия природные пожары происходят чаще и с большей интенсивностью, однако механизмы цитотоксического действия дыма на клеточном уровне изучены недостаточно. Определение цитотоксичности экстракта торфяного дыма (ЭТД) на фибробластах служит адекватной моделью для изучения острых и хронических эффектов его воздействия.

Материалы и методы. Оценка цитотоксичности торфяного дыма проведена в серии экспериментов *in vitro* с использованием ЭТД в восьми разведениях (содержание компонентов дыма 12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5 и 100%) на эмбриональных мышинных фибробластах 3T3-SV40. Цитотоксическое действие оценивали после 24-часовой инкубации по концентрации лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в культуральной среде и с помощью метилтетразолиевого теста (МТТ), представлена морфологическая оценка клеток.

Результаты. Установлено, что ЭТД приводит в первую очередь к снижению метаболической активности фибробластов, о чём свидетельствует более низкая средняя ингибирующая концентрация (IC₅₀) (53,6%), рассчитанная по МТТ-тесту. При оценке цитотоксического эффекта ЭТД в ЛДГ-тесте наблюдалось резкое снижение жизнеспособности клеток при концентрации более 62,5%, величина IC₅₀ в данном тесте составила 57,7%. Воздействие ЭТД в концентрациях 37,5% и более приводит к морфологическим изменениям: нарушается целостность монослоя, появляются фибробласты с признаками дистрофии, зернистостью цитоплазмы, а также отдельные фрагментированные фибробласты, определяются зоны деструкции и лизиса клеток.

Ограничения исследования. Исследование ограничено изучением цитотоксичности ЭТД на культуре клеток 3T3-SV40 с помощью морфологической оценки, МТТ-теста и определения концентрации ЛДГ.

Заключение. Дана оценка воздействия торфяного дыма на фибробласты *in vitro*, что позволило установить первичную токсикологическую характеристику ЭТД.

Ключевые слова: торфяной дым; цитотоксичность; культура клеток; МТТ-тест; определение ЛДГ

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ ВСИМЭИ (протокол № 7 от 15.12.2023 г.), проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

Для цитирования: Абрамова В.А., Вокина В.А., Соседова Л.М. Исследование цитотоксичности экстракта торфяного дыма на культуре клеток 3T3-SV40. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(11): 1549–1553. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-11-1549-1553> <https://elibrary.ru/hskznr>

Для корреспонденции: Абрамова Вера Александровна, e-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

Участие авторов: Абрамова В.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка данных, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Вокина В.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка данных, статистическая обработка, написание текста; Соседова Л.М. — концепция и дизайн исследования, редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

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

Финансирование. Работа выполнена по плану НИР в рамках государственного задания.

Поступила: 20.07.2025 / Поступила после доработки: 03.10.2025 / Принята к печати: 15.10.2025 / Опубликована: 19.12.2025

Vera A. Abramova, Vera A. Vokina, Larisa M. Sosodova

Evaluation of cytotoxicity of peat smoke extract on 3T3-SV40 cell culture

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. In recent decades, wildfires have become more frequent and intense in many fire-prone areas. However, the mechanisms of smoke cytotoxicity at the cellular level are poorly understood. The study of peat smoke extract (PSE) cytotoxicity in fibroblasts is an important model for studying the acute and chronic effects of smoke exposure.

Materials and methods. The cytotoxicity of peat smoke was assessed in a series of *in vitro* experiments using PSE in 8 dilutions (12.5, 25, 37.5, 50, 62.5, 75, 87.5 and 100%) on 3T3-SV40 mouse embryonic fibroblasts. The cytotoxic effect was assessed after 24-hour incubation by determining the concentration of lactate dehydrogenase (LDH) in the culture medium and performing the MTT test; a morphological assessment of the cells was given.

Results. The results of the study indicate that PSE primarily leads to a decrease in the metabolic activity in fibroblasts, as evidenced by a lower value of the mean inhibitory concentration (IC₅₀) (53.6%) calculated by the MTT test. When assessing the cytotoxic effect of PSE in the LDH test, a sharp decrease in cell viability was observed at its concentration above 62.5%, the IC₅₀ value in this test was 57.7%.

Limitations. The study is limited to the investigation of the cytotoxicity of PSE on the 3T3-SV40 cell culture using morphological assessment, MTT test and determination of LDH concentration.

Conclusion. As a result of the conducted studies, an assessment of the impact of peat smoke on fibroblasts *in vitro* was carried out, with the help of which a primary toxicological characteristic of PSE was given.

Keywords: peat smoke; cytotoxicity; cell culture; MTT Assay; LDH Assay

Compliance with ethical standards. The study was approved by the local ethics committee of the East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (Protocol No. 7 of 12/15/2023), conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or for Other Scientific Purposes (ETS N 123), Directive 2010/63/EC of the European Parliament and the Council of 09/22/2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

For citation: Abramova V.A., Vokina V.A., Sosodova L.M. Evaluation of cytotoxicity of peat smoke extract on 3T3-SV40 cell culture. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(11): 1549–1553. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-11-1549-1553> <https://elibrary.ru/hskznr> (In Russ.)

For correspondence: Vera A. Abramova, e-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

Contribution: Abramova V.A. — concept and design of research, data collection and processing, statistical data processing, text writing, editing; Vokina V.A. — concept and design of research, data collection and processing, statistical data processing, text writing; Sosodova L.M. — concept and design of research, editing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

Funding. The work was carried out according to the research plan within the framework of the state task.

Received: July 20, 2025 / Revised: October 3, 2025 / Accepted: October 15, 2025 / Published: December 19, 2025

Введение

Горение торфа представляет особую опасность, поскольку сопровождается длительным тлением с образованием огромного количества плотного дыма, насыщенного высокотоксичными продуктами неполного сгорания. В результате общий объём дыма от торфяника может в десятки раз превышать таковой от лесного пожара на аналогичной площади. В настоящее время накоплены достаточные эпидемиологические данные о негативном влиянии на здоровье торфяного дыма, однако механизмы его цитотоксического воздействия на клеточном уровне изучены недостаточно. Поэтому для определения токсичности дыма от природных пожаров (ПП) и сжигания биомассы проводятся исследования как *in vivo*, так и *in vitro*. Результаты экспериментов на моделях *in vivo* (грызуны, кролики, собаки) с анализом физиологических показателей подтверждают и детализируют токсическое действие дыма на организм человека [1–3], однако эти методы имеют этические и финансовые ограничения. На исследования *in vitro* эти ограничения не распространяются, при этом возможно быстро и с высокой точностью оценить цитотоксические эффекты [4]. Два указанных типа исследований обычно предоставляют дополнительную информацию о механизмах токсического действия.

В последние годы тестирование в экспериментальных исследованиях *in vitro* широко используется для определения токсичности и метаболизма вдыхаемых веществ, применяются различные источники выбросов дыма — пиротехнические составы, горение древесины, сигаретный дым [5–9]. При этом для исследований используют либо отдельное химическое вещество, либо отдельный вид древесины, либо воздействие на клетки на границе раздела «воздух — жидкость». Особенностью торфяного дыма является его многокомпонентный состав, поэтому актуально изучение воздействия на клеточную культуру всего комплекса веществ, содержащегося в дыме, — и твёрдых частиц, и водорастворимых соединений. Тем не менее в доступной литературе данные о воздействии дыма торфяных пожаров, установленном в исследованиях *in vitro*, представлены недостаточно.

В качестве модели для экспериментов *in vitro* в нашей работе были выбраны эмбриональные фибробласты мыши линии 3T3-SV40. Фибробласты являются стромальными клетками и находятся во всех тканях и органах тела. Из-за большой распространённости клеток данного типа в организме они широко используются в качестве объектов токсикологических исследований для определения в культуре повреждающего действия химических соединений на метаболизм клеток соединительной ткани человека и животных. Кроме того, фибробласты играют ключевую роль в процессах воспаления и ремоделирования соединительной ткани дыхательных путей при хроническом воздействии поллютантов, что делает их релевантной моделью для изучения отдалённых последствий.

На данном этапе исследования *in vitro* мы изучали токсичность водорастворимого ЭТД в различных разведениях. Актуальность настоящего исследования обусловлена необходимостью углублённого изучения механизмов цитотоксичности сложной многокомпонентной смеси торфяного дыма с использованием релевантной, чувствительной и воспроизводимой клеточной модели.

Цель исследования — оценить цитотоксическое действие ЭТД на культуре фибробластов и определить минимальную среднюю ингибирующую концентрацию ЭТД по показателю жизнеспособности клеток.

Материалы и методы

Для изучения токсичности ЭТД в опыте *in vitro* использовано ранее разработанное устройство для моделирования интоксикации продуктами горения биомассы [10]. Субстратом служил торф, пробы которого были отобраны на осушённых торфяных болотах в Ангарском районе Иркутской области. Пробу торфа массой 20 г подвергали термодеструк-

ции в течение 2 ч при пониженном давлении, создаваемом с помощью аспирационного насоса, со скоростью потока 10 л/мин. Основной поток торфяного дыма барботировали в 50 мл питательной среды DMEM.

В торфяном дыме содержание угарного газа (CO) составило $629,4 \pm 21,4$ мг/м³, а средняя концентрация PM_{2,5} — $1,37 \pm 0,19$ мг/м³. Наше исследование ограничено определением содержания CO и частиц только в воздухе экспозиционной камеры. Каждые 15 мин в воздухе камеры с помощью газоанализатора ГАНК-4АР (НПО «Прибор» ГАНК, РФ) определяли концентрации акролеина, сероуглерода, углерода оксида, углерода диоксида, ацетальдегида, объёмную долю кислорода. С помощью анализатора аэрозоля DustTrak 8530 (TSI, Germany) оценивали массовую концентрацию аэрозольных частиц диаметром менее 2,5 мкм (PM_{2,5}).

Выделяющийся торфяной дым барботировали в культуральной среде. Для приготовления основного раствора pH полученного экстракта доводили до pH культуральной среды. В эксперименте мы оценивали цитотоксичность цельного ЭТД, содержащего как твёрдые частицы, так и водорастворимые соединения. Этот экстракт был определён как 100% и применялся в различных процентных концентрациях: 12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5 и 100%. Полученный раствор был разделён на аликвоты и хранился при температуре минус 70 °C до использования.

Эмбриональные фибробласты мыши 3T3-SV40 получены из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН. Клетки культивировали в питательной среде DMEM (ООО «Биолот», Россия) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Research Grade, Новая Зеландия), 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (ООО «Биолот», Россия) при температуре плюс 37 °C в атмосфере 5%-го CO₂. Клетки использовали между 4–10 пассажами в посевной концентрации 100 тыс. клеток на лунку. Для оценки морфологии монослоя до и после воздействия ЭТД применяли световой инвертированный микроскоп «МИБ-Р» (ОАО «ЛОМО», Россия) при 200-кратном увеличении. Оценивали форму и границы клеток, состояние цитоплазмы, плотность и распределение клеток в культуре, наличие или отсутствие зон деструкции и дистрофии.

Для изучения цитотоксичности использовали МТТ-тест и определение концентрации ЛДГ. Через 24 ч культивирования клеток в лунках 96-луночного планшета культуральную среду удаляли и вносили по 100 мкл каждого разведения основного раствора ЭТД (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5 и 100%) в трёх параллелях. В качестве контроля использовали лунки с клетками, не подвергавшимися действию ЭТД, а лунки с культуральной средой без клеток — в качестве холостой пробы. По прошествии 24 ч культуральную среду собирали для определения ЛДГ, а в лунки добавляли поддерживающую среду (без сыворотки и антибиотиков) и по 30 мкл реагента МТТ (5 мг/мл). Затем на два часа помещали планшет в CO₂-инкубатор для образования внутриклеточных пурпурных кристаллов формазана, после чего удаляли среду и добавляли по 100 мкл диметилсульфоксида. Для полного растворения кристаллов формазана планшет помещали в шейкер ES-20 (Biosan, Латвия) на 10 мин, после чего определяли оптическую плотность в каждой лунке, в том числе в холостых, при длине волны 492 нм на планшетном ридере MR-96A Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., КНР). Результаты МТТ-теста получали путём сопоставления среднего значения оптической плотности в опытных и контрольных лунках с применением холостой пробы. Содержание ЛДГ определяли спектрофотометрическим методом по восстановлению НАД в присутствии лактата с помощью набора BioSystems 11586 (Барселона, Испания) в культуральной среде клеток, изъятых из лунок планшета до проведения МТТ-теста. Для достижения статистической достоверности каждую концентрацию материала и контрольных образцов исследовали в трёх параллелях. Поглощение измеряли при 340 нм с использованием микрофотоколориметра МКМФ-02

(ООО «НПФ Медицина-Техника», Россия). Данные для контрольных и экспонированных клеток рассчитывали и выражали в виде процента цитотоксичности как среднее значение трёх лунок для каждой концентрации; IC50 рассчитывали с помощью уравнения линейной регрессии.

Результаты

В настоящем исследовании проведён анализ цитотоксичности цельного ЭТД, полученного при барботировании дыма через культуральную среду, в результате чего образовывался экстракт, содержащий весь комплекс веществ, перешедших в раствор при барботировании. Поскольку патологические изменения и гибель клеток могут быть результатом различных механизмов цитотоксичности, одновременное применение нескольких методов, таких как определение ЛДГ, МТТ-тест и морфологическая оценка клеток, позволяет получить более полную и достоверную картину состояния клеток после воздействия изучаемого фактора.

Фактические концентрации ЭТД не отражают эффективности экстракции химических соединений из газовой в водную фазу и насыщения водной фазы химическими соединениями, поэтому для исследований *in vitro* нами использован подход, основанный на представлении концентрации ЭТД по суммарной экспозиционной нагрузке основными компонентами дыма (СО и РМ_{2,5}) [11]. С учётом скорости потока воздуха, содержания в нём СО $629,4 \pm 21,4$ мг/м³ и длительности барботирования через культуральную среду условно прошло 754,8 мг СО, что составляет 15,1 мг/мл. Однако оксид углерода плохо растворим в воде (коэффициент растворимости 0,25), из-за чего в культуральной среде условно содержалось 3,8 мг СО в 1 мл. Средняя концентрация РМ_{2,5} в торфяном дыме составила $1,37 \pm 0,19$ мг/м³; таким образом, расчётная концентрация РМ_{2,5} в полученном ЭТД с учётом времени барботирования и объёма культуральной среды составила 0,033 мг/мл.

О гибели клеток можно судить по морфологическим изменениям. При световой микроскопии планшета с фибробластами, проведённой до постановки МТТ-теста, было установлено, что в контроле сформировался плотный монослой клеток вытянутой формы, плотно прилегающих друг к другу (рис. 1, см. на вклейке).

Рисунок показывает, что при действии ЭТД в концентрации до 25% заметные признаки деструкции отсутствуют. При добавлении ЭТД в концентрациях от 37,5% нарушается целостность монослоя, появляются фибробласты с признаками дистрофии, зернистостью цитоплазмы, а также отдельные фрагментированные фибробласты, определяются зоны деструкции и лизиса клеток.

Измерение жизнеспособности и пролиферации клеток лежит в основе многочисленных исследований реакции клеточной популяции *in vitro* на внешние факторы. МТТ-тест показал, что ЭТД в концентрации 12,5% вызывает наименьшее ингибирование жизнеспособности клеток (18%) (рис. 2, см. на вклейке). В концентрациях, превышающих 75%, жизнеспособность снижалась на 70% и более. По данным оптической плотности рассчитана IC50 ЭТД, вызывающая торможение роста клеток на 50%. При расчёте IC50 ЭТД составила 53,6% от начальной концентрации ($y = -0,896x + 98,356$). При этом ни одна из концентраций не вызывала увеличения оптической плотности относительно контроля, что свидетельствует о торможении деления клеток и последующей их гибели при более высоких концентрациях.

Результаты ЛДГ-теста показали, что концентрация ЭТД выше 62,5% вызывает значительный выход ЛДГ из клеток, концентрация данного фермента в культуральной среде при этом составляла 189–264 Ед/л. Аналогичный уровень содержания ЛДГ в культуральной среде был зафиксирован нами в предварительных исследованиях при полном лизисе клеток, вызванным введением диметилсульфоксида в конечной концентрации 15%.

Таким образом, можно утверждать, что при воздействии высоких концентраций ЭТД (62,5% и выше) происходит разрушение мембран и лизис большинства клеток монослоя. Значение IC50 ЭТД по результатам ЛДГ-теста составило 57,7% ($y = -1,1213 + 113,73$).

Обсуждение

Клинические и токсикологические исследования позволяют детально изучить воздействие различных фракций дыма на организм. В большинстве работ токсическое действие дыма биомассы определяли с использованием экстракта сигаретного дыма или дыма, образующегося при сжигании древесины, который получали барботированием непосредственно в водном растворе, следовательно, в его составе присутствует как фракция твёрдых частиц и смол, так и газовая фаза. Но поскольку большая часть фракции твёрдых частиц и смол может улавливаться альвеолярным эпителием, важно выявить цитотоксические эффекты именно газовой фазы дыма. В исследованиях показано, что отфильтрованный от смол, твёрдых частиц и никотина экстракт сигаретного дыма способен окислять липопротеины низкой плотности *in vitro*, что может способствовать атеросклеротическим изменениям в артериях *in vivo* [12, 13]. Кроме того, в работах Н. Asano и соавт. [14] и Y. Mai и соавт. [15] установлено, что дым сигарет, не содержащий никотина и смол, проявляет цитотоксичность, приводя к повреждению плазматической мембраны и апоптозу клеток. Авторы показали, что повреждение плазматической мембраны происходит главным образом за счёт протеинкиназы С (РКС)-зависимой активации НАДФН-оксидазы (NO_x), а как следствие, генерации АФК (РКС/NOX-зависимый механизм), а клеточный апоптоз частично обусловлен РКС/NOX-зависимым механизмом.

Вместе с тем современные токсикологические исследования на животных показывают, что твёрдые частицы от лесных пожаров более токсичны, чем твёрдые частицы в аналогичных дозах, полученные из других источников в окружающей среде. Исследованиями *in vitro* и *in vivo* установлено, что повышенная токсичность твёрдых частиц, специфичных для ПП, объясняется механизмами воспаления, окислительного стресса или усилением респираторных инфекций за счёт изменения активности лёгочных макрофагов. Твёрдые частицы лесных пожаров в основном углеродистые (5–20% элементарного углерода и не менее 50% органического углерода) и имеют больший окислительный потенциал по сравнению с твёрдыми частицами из других источников из-за присутствия большого количества полярных органических соединений. Таким образом, твёрдые частицы в составе дыма ПП способны генерировать больше свободных радикалов и имеют больший потенциал для индукции воспаления и окислительного стресса в лёгких, чем частицы из атмосферного воздуха. Исследования в основном посвящены изучению токсического действия дыма, полученного при горении определённого вида древесины, или ограничиваются использованием твёрдых частиц, полученных в реальных условиях ПП. Современные данные о цитотоксичности дыма ПП малочисленны и противоречивы. Экстракт древесного дыма и полученные из него компоненты в виде твёрдых частиц при анализе в экспериментах *in vitro* с использованием линий клеток человека демонстрируют способность вызывать окислительный стресс и повреждение ДНК [16, 17], а условия сжигания существенно влияют на характеристики образующихся твёрдых частиц и, как следствие, на их токсичность. В исследовании А.К. Bölling и соавт. показано, что воздействие твёрдых частиц РМ_{0,1–10}, характерных для горения смеси древесины лиственных и хвойных пород, на клетки аденокарциномы лёгкого человека A549 приводит к значительному увеличению высвобождения ЛДГ после 40 ч воздействия [18]. Аналогичным образом клетки A549, подвергшиеся воздействию РМ₁, образующихся при сжигании берёзы, бука и ели, показали значительное снижение жизнеспособности, что было

определено с помощью анализа МТТ и метода исключения пропидия йодида [19]. При этом авторы отмечают разницу токсикологического потенциала изученных образцов, указывающую на разные механизмы токсического воздействия в зависимости от химического состава. Противоположные результаты получены в исследовании T.S. Lee и соавт., в котором клетки альвеолярного эпителия II типа крыс, подвергшиеся воздействию экстракта древесного дыма в концентрации 60 мкг/мл в течение 24 ч, продемонстрировали значительное повышение жизнеспособности с помощью МТТ-теста [20]. Исследования D. Krimmer и соавт. показали, что дым ПП может влиять на миграцию клеток. Фибробласты лёгких, подвергавшиеся воздействию дыма, полученного при сжигании английского дуба, демонстрировали значительное увеличение экспрессии фибронектина, что позволяет предположить усиление миграции клеток [21]. Существенные отличия в методических подходах данных исследований не позволяют провести сравнительный анализ имеющихся данных, однако следует отметить, что параметры цитотоксичности дыма, образующегося при горении древесины различных типов, в значительной степени определяются не только твёрдыми частицами, на поверхности которых адсорбированы различные токсичные соединения, но и веществами, присутствующими в составе дыма в газовой фазе. С учётом этого в нашем эксперименте выполнена оценка цитотоксичности цельного ЭТД. В результате дана первичная токсикологическая характеристика ЭТД на основе определения токсикометрического показателя IC50. Минимальная IC50 ЭТД по показателю жизнеспособности клеток составила 53,6% от начальной концентрации ЭТД, что соответствует концентрации твёрдых частиц PM_{2.5} в культуральной среде $\approx 0,017$ мг/мл, а CO – 2,04 мг/мл. Полученные результаты позволяют предположить, что воздействие водного ЭТД, содержащего твёрдые частицы и водорастворимую фракцию, приводит к метаболическим нарушениям в клетках с последующим повреждением клеточных мембран. МТТ-тест способен выявить снижение активности митохондриальных дегидрогеназ, что может быть обусловлено разными причинами, такими как нарушение окис-

лительного фосфорилирования, повышенное образование активных форм кислорода, влияние гормонов и цитокинов, нарушение энергетического обмена и др. Следовательно, МТТ-тест позволяет оценить общую метаболическую активность клеток, однако для более тонкого анализа конкретного механизма нарушения применяют дополнительные исследования. Повреждение клеточных мембран является одним из ключевых механизмов цитотоксичности, так как приводит к утечке внутриклеточного содержимого и гибели клетки. С помощью светового инвертированного микроскопа можно увидеть, что клетки, подвергавшиеся воздействию ЭТД более 37,5%, сморщены, их чёткие границы потеряны, происходит отслаивание от субстрата, цвет культуральной среды значительно изменяется от красного до розовато-серого, что указывает на изменение pH. С увеличением концентрации ЭТД данные признаки усиливаются, следовательно, наблюдается развитие цитотоксического эффекта. Полученные с помощью визуальной оценки и МТТ-теста данные согласуются с результатами оценки увеличения ЛДГ в культуральной среде. Использование данного методического подхода позволяет оценить влияние продуктов горения торфа на мембранном и клеточном уровнях с учётом качественных и количественных показателей.

Заключение

Проведённое исследование демонстрирует, что комбинированное применение МТТ-теста, анализа высвобождения ЛДГ и морфологической оценки даёт возможность комплексно охарактеризовать цитотоксический ответ клеток линии 3T3-SV40 на воздействие ЭТД. Установлено, что исследуемый экстракт в первую очередь вызывает снижение метаболической активности клеток (более низкое значение IC50 по данным МТТ-теста), а при более высоких концентрациях приводит к повреждению клеточных мембран и лизису (по данным ЛДГ-теста и морфологическим изменениям). Полученные значения IC50 (53,6 и 57,7%) дают первичную количественную оценку токсичности экстракта для данной клеточной модели.

Литература

(п.п. 1–9, 12–21 см. References)

10. Вокина В.А., Андреева Е.С., Новиков М.А., Соседова Л.М. Устройство для моделирования интоксикации у мелких лабораторных животных продуктами горения биомассы. Патент РФ № 213283; 2022. <https://elibrary.ru/rvksfgf>
11. Лемешевская Е.П., Куренкова Г.В., Жукова Е.В. Профессиональный риск здоровью работников промышленных предприятий. Иркутск; 2016. <https://elibrary.ru/ikagty>
1. Martin W.K., Schladweiler M.C., Oshiro W., Smoot J., Fisher A., Williams W., et al. Wildfire-related smoke inhalation worsens cardiovascular risk in sleep disrupted rats. *Front. Environ. Health.* 2023; (2): 1166918. <https://doi.org/10.3389/fenvh.2023.1166918>
2. David P., Dunsford D., Lu J., Moochhala S. Animal models of smoke inhalation induced injuries. *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2009; 14(12): 4618–30. <https://doi.org/10.2741/3554>
3. Migliaccio C.T., Mauderly J.L. Biomass smoke exposures: toxicology and animal study design. *Inhal. Toxicol.* 2010; 22(2): 104–7. <https://doi.org/10.3109/08958370903008870>
4. Krewski D., Acosta D. Jr., Andersen M., Anderson H., Bailar J.C. 3rd, Boekelheide K., et al. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2010; 13(2–4): 51–138. <https://doi.org/10.1080/10937404.2010.483176>
5. Ashrin A., Anna E., Peyret E., Barbier G., Floreani M., Pointart C., et al. Evaluation of the toxicity of combustion smokes at the air-liquid interface: a comparison between two lung cell models and two exposure methods. *Arch. Toxicol.* 2025; 99(4): 1471–84. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03964-x>
6. Ihantola T., Di Bucchianico S., Happonen M., Ihalainen M., Uski O., Bauer S., et al. Influence of wood species on toxicity of log-wood stove combustion aerosols: a parallel animal and air-liquid interface cell exposure study on spruce and pine smoke. *Part Fibre Toxicol.* 2020; 17(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00355-1>
7. Marchetti S., Bengalli R., Floris P., Colombo A., Mantecchia P. Combustion-derived particles from biomass sources differently promote epithelial-to-mesenchymal transition on A549 cells. *Arch. Toxicol.* 2021; 95(4): 1379–90. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-02983-8>
8. La Rocca G., Anzalone R., Magno F., Farina F., Cappello F., Zummo G. Cigarette smoke exposure inhibits extracellular MMP-2 (gelatinase A) activity in human lung fibroblasts. *Respir. Res.* 2007; 8(1): 23. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-8-23>
9. Wong L.S., Green H.M., Feugate J.E., Yadav M., Nothnagel E.A., Martins-Green M. Effects of «second-hand» smoke on structure and function of fibroblasts, cells that are critical for tissue repair and remodeling. *BMC Cell Biol.* 2004; 5(1): 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-5-13>
10. Voikina V.A., Andreeva E.S., Novikov M.A., Sosodova L.M. Device for modeling intoxication in small laboratory animals with biomass combustion products. Патент РФ №213283; 2022. (in Russian)
11. Lemeshevskaya E.P., Kurenkova G.V., Zhukova E.V. *Occupational Health Risks to Workers in Industrial Enterprises [Professional'nyi risk zdorov'yu rabotnikov promyshlennykh predpriyatii]*. Irkutsk; 2016. <https://elibrary.ru/ikagty> (in Russian)
12. Kunitomo M., Yamaguchi Y., Kagota S., Yoshikawa N., Nakamura K., Shinozuka K. Biochemical evidence of atherosclerosis progression mediated by increased oxidative stress in apolipoprotein E-deficient spontaneously hyperlipidemic mice exposed to chronic cigarette smoke. *J. Pharmacol. Sci.* 2009; 110(3): 354–61. <https://doi.org/10.1254/jphs.09100fp>
13. Yamaguchi Y., Nasu F., Harada A., Kunitomo M. Oxidants in the gas phase of cigarette smoke pass through the lung alveolar wall and raise systemic oxidative stress. *J. Pharmacol. Sci.* 2007; 103(3): 275–82. <https://doi.org/10.1254/jphs.f0061055>
14. Asano H., Horinouchi T., Mai Y., Sawada O., Fujii S., Nishiya T., et al. Nicotine- and tar-free cigarette smoke induces cell damage through reactive oxygen species newly generated by PKC-dependent activation of NADPH oxidase. *J. Pharmacol. Sci.* 2012; 118(2): 275–87. <https://doi.org/10.1254/jphs.11166fp>

15. Mai Y., Higashi T., Terada K., Hatate C., Nepal P., Horiguchi M., et al. Nicotine- and tar-free cigarette smoke extract induces cell injury via intracellular Ca^{2+} -dependent subtype-specific protein kinase C activation. *J. Pharmacol. Sci.* 2012; 120(4): 310–4. <https://doi.org/10.1254/jphs.12219sc>
16. Corsini E., Budello S., Marabini L., Galbiati V., Piazzalunga A., Barbieri P., et al. Comparison of wood smoke $\text{PM}_{2.5}$ obtained from the combustion of FIR and beech pellets on inflammation and DNA damage in A549 and THP-1 human cell lines. *Arch. Toxicol.* 2013; 87(12): 2187–99. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1071-z>
17. Hansson A., Rankin G., Uski O., Friberg M., Pourazar J., Lindgren R., et al. Reduced bronchoalveolar macrophage phagocytosis and cytotoxic effects after controlled short-term exposure to wood smoke in healthy humans. *Part Fibre Toxicol.* 2023; 20(1): 30. <https://doi.org/10.1186/s12989-023-00541-x>
18. Bølling A.K., Totlandsdal A.I., Sallsten G., Braun A., Westerholm R., Bergvall C., et al. Wood smoke particles from different combustion phases induce similar pro-inflammatory effects in a co-culture of monocyte and pneumocyte cell lines. *Part Fibre Toxicol.* 2012; 9(1): 45. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-9-45>
19. Kasurinen S., Jalava P.I., Happonen M.S., Sippula O., Uski O., Koponen H., et al. Particulate emissions from the combustion of birch, beech, and spruce logs cause different cytotoxic responses in A549 cells. *Environ. Toxicol.* 2017; 32(5): 1487–99. <https://doi.org/10.1002/tox.22369>
20. Lee T.S., Liu Y.J., Tang G.J., Yien H.W., Wu Y.L., Kou Y.R. Wood smoke extract promotes both apoptosis and proliferation in rat alveolar epithelial type II cells: the role of oxidative stress and heme oxygenase-1. *Crit. Care Med.* 2008; 36(9): 2597–606. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318184979c>
21. Krimmer D., Ichimaru Y., Burgess J., Black J., Oliver B. Exposure to biomass smoke extract enhances fibronectin release from fibroblasts. *PLoS One.* 2013; 8(12): e83938. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083938>

Сведения об авторах

Абрамова Вера Александровна, канд. фарм. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

Вокина Вера Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: vokina.vera@gmail.com

Соседова Лариса Михайловна, доктор мед. наук, профессор, зав. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665827, Ангарск, Россия. E-mail: sosedlar@mail.ru

Information about the authors

Vera A. Abramova, PhD (Pharmacology), senior researcher, Laboratory of biomodelling and translational medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9406-5424> E-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

Vera A. Vokina, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of biomodelling and translational medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8165-8052> E-mail: vokina.vera@gmail.com

Larisa M. Sosedova, DSc (Medicine), professor, head, Laboratory of biomodelling and translational medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1052-4601> E-mail: sosedlar@mail.ru

К статье В.А. Абрамовой и соавт.
To the article by Vera A. Abramova et al.

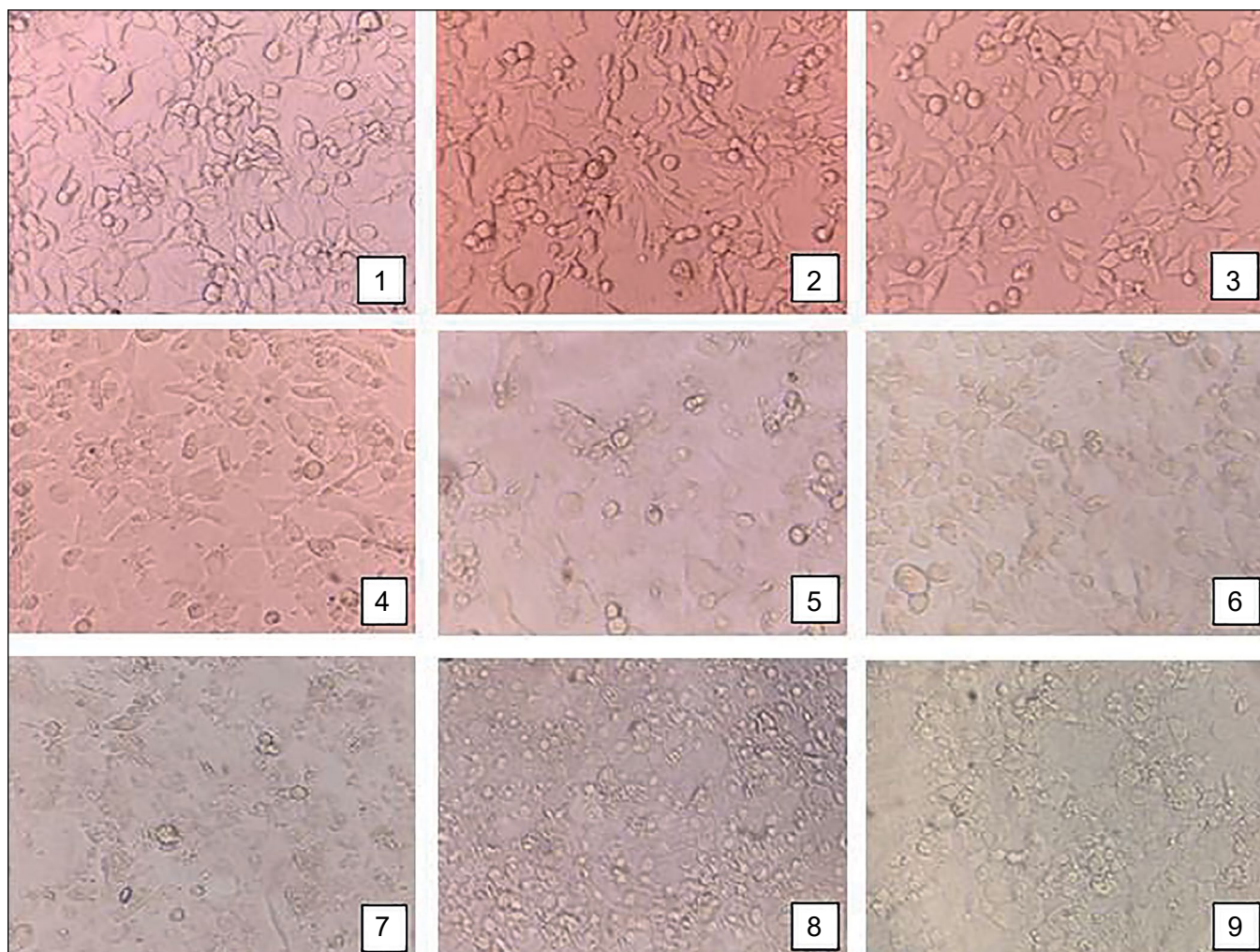


Рис. 1. Морфологические изменения в культуре фибробластов при экспозиции с ЭТД разной концентрации:
 1 – контроль; 2 – 12,5% ЭТД; 3 – 25%; 4 – 37,5%; 5 – 50%; 6 – 62,5%; 7 – 75%; 8 – 87,5%; 9 – 100%.

Fig. 1. Morphological changes in fibroblast culture upon the exposure to peat smoke extract in different concentrations:
 1 – control; 2 – 12.5%, 3 – 25%; 4 – 37.5%, 5 – 50%; 6 – 62.5%; 7 – 75%; 8 – 87.5%; 9 – 100% peat smoke extract.

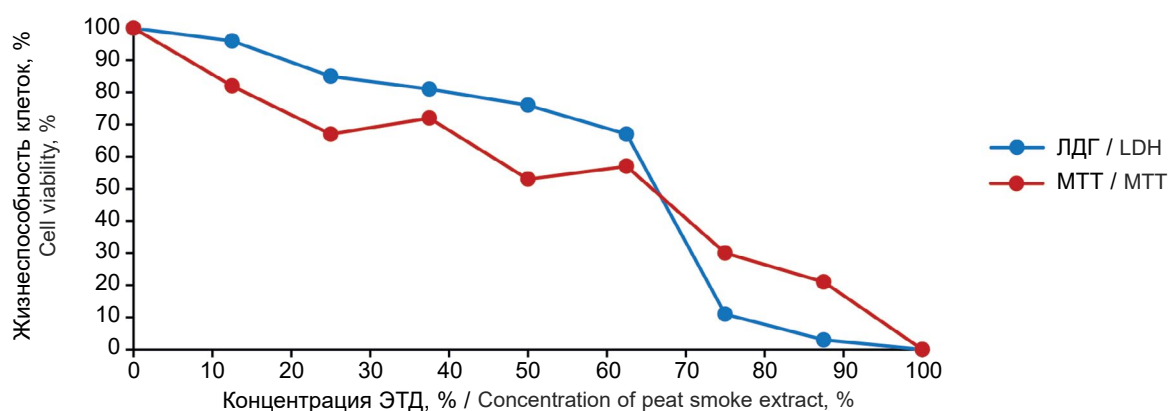


Рис. 2. Зависимость жизнеспособности клеток от концентрации ЭТД.

Fig. 2. Dependence of cell viability on the concentration of peat smoke extract.