

Читать
онлайн
Read
onlineКузянов Д.А.¹, Моисеева Е.М.¹, Микеров А.Н.^{1,2}, Эрдниев Л.П.¹, Луцевич И.Н.²

Обоснование перспективности использования культуры клеток *HiTi 80* для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения

¹Саратовский медицинский научный центр гигиены ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия;

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, 410012, Саратов, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Существующие ограничения традиционных методов контроля качества и безопасности воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения определяют актуальность применения клеточных моделей *in vitro* для оперативного выявления химического загрязнения проб воды.

Цель работы — обоснование применения культуры клеток человека *HiTi 80* для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения по результатам экспериментального моделирования.

Материалы и методы. Оценку качества воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения осуществляли по расширенному перечню показателей (45 санитарно-химических показателей), в том числе определяли обязательный минимум по МР 2.1.4.0176–20, в соответствии с нормативными значениями, установленными СанПиН 1.2.3685–21. Воздействие проб воды на культуру клеток *HiTi 80* оценивали по изменению активности митохондриальных дегидрогеназ после 48-часовой экспозиции.

Результаты. Установлено, что 5 из 10 проб воды оказывали негативное воздействие на культуру клеток *HiTi 80*, при этом в двух из них регистрировали превышения установленных гигиенических нормативов содержания химических веществ (ионы магния, натрия, лития, а также хлорид- и сульфат-ионы). Проведённое экспериментальное моделирование состава нативных проб воды показало, что негативное воздействие на метаболизм клеток может быть обусловлено присутствием ионов магния, сульфат-ионов и ионов лития в концентрациях как превышающих, так и находящихся ниже предельно допустимых. Комбинированное воздействие ионов неорганических веществ вызывало более выраженное изменение метаболической активности клеток по сравнению с влиянием каждого из них в отдельности.

Ограничения исследования. Исследование ограничено необходимостью наличия специального оборудования и приборов измерения, небольшим объёмом выборки и обязательным учётом микробиологического фактора.

Заключение. Результаты проведённого исследования нативных проб воды и экспериментального моделирования их состава продемонстрировали потенциал использования культуры клеток *HiTi 80* для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения при превышении ПДК по отдельным санитарно-химическим показателям.

Ключевые слова: культура клеток человека *HiTi 80*; химическое загрязнение воды; тест-система *in vitro*; источники хозяйственно-питьевого водопользования населения

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (протокол заседания № 18 от 01.09.2022 г.), проведено согласно общепринятым научным принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ред. 2013 г.).

Для цитирования: Кузянов Д.А., Моисеева Е.М., Микеров А.Н., Эрдниев Л.П., Луцевич И.Н. Обоснование перспективности использования культуры клеток *HiTi 80* для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения. *Гигиена и санитария*. 2026; 105(5): 486–492. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2026-105-5-486-492> <https://elibrary.ru/slpjpn>

Для корреспонденции: Кузянов Дмитрий Андреевич, e-mail: dimakuzyanov2000@gmail.com

Вклад авторов: Кузянов Д.А. — концепция и дизайн исследования, сбор материала, статистическая обработка данных, написание текста; Моисеева Е.М. — сбор и обработка материала, написание текста; Микеров А.Н. — редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Эрдниев Л.П. — редактирование; Луцевич И.Н. — редактирование, утверждение окончательного варианта статьи. **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. Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила: 24.03.2026 / Принята к печати: 20.05.2026 / Опубликована: 18.06.2026

Dmitry A. Kuzyanov¹, Elizaveta M. Moiseeva¹, Anatoly N. Mikerov^{1,2}, Leonid P. Erdniev¹, Igor N. Lutceвич²

Justification of the prospects of using HuTu 80 cell culture for detecting chemical contamination of water sources for household and drinking water use by the population

¹Saratov Hygiene Medical Research Center «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies», Saratov, 410022, Russian Federation;

²Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The inherent limitations of conventional water quality and safety monitoring for public drinking water supplies underscore the urgent need for “in vitro” cellular models. Such models provide a robust framework for the rapid screening and identification of chemical contaminants in water samples.

The purpose of the work is to substantiate, based on the results of experimental modeling, the possibility of using the HuTu 80 human cell culture to detect chemical contamination of water sources for household and drinking water use by the population.

Materials and methods. The quality and safety of drinking water sources were assessed using an expanded set of forty five sanitary-chemical indicators, including the mandatory minimum (MR 2.1.4.0176–20), in compliance with the regulatory standards established in SanPiN 1.2.3685–21. The response of the HuTu 80 cell line to water samples was assessed by monitoring changes in mitochondrial dehydrogenase activity following a 48-hour exposure period.

Results. 5 out of 10 water samples exerted an adverse impact on the HuTu 80 cell line, although only two samples showed concentrations of chemical substances (magnesium, sodium, lithium ions, as well as chlorides and sulfates) exceeding established regulatory limits. Experimental modeling of the native water composition for the first time demonstrated that metabolic inhibition could be attributed to the presence of magnesium, sulfate, and lithium ions at concentrations both above and below their respective maximum permissible levels. Furthermore, the combined effect of these inorganic ions induced a more pronounced shift in metabolic activity compared to the influence of each individual component.

Limitations. The present study is limited by the requirement for specialized equipment and precision analytical instruments, a relatively small sample size, and the necessity to account for microbiological factors.

Conclusions. The results of the study on native water samples and experimental modeling of their composition demonstrated the potential of using the HuTu 80 cell culture to detect chemical pollution in drinking water sources when maximum permissible concentrations for individual sanitary-chemical indicators are exceeded.

Keywords: HuTu 80 human cell line; chemical water contamination; in vitro test system; public drinking water sources

Compliance with ethical standards. Study approval was provided by the Local Ethics Committee of the Saratov Hygiene Medical Research Center of the FBSI «FSC Medical and Preventive Health Risk Management Technologies (meeting protocol No. 18 dated 5 September 1 2022) and was conducted in accordance with the generally accepted scientific principles of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2013 revision).

For citation: Kuzyanov D.A., Moiseeva E.M., Mikerov A.N., Erdniev L.P., Lutceвич I.N. Justification of the prospects of using HuTu 80 cell culture for detecting chemical contamination of water sources for household and drinking water use by the population. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian Journal*. 2026; 105(5): 486–492. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2026-105-5-486-492> <https://elibrary.ru/slp1qn> (In Russ.)

For correspondence: Dmitry A. Kuzyanov, e-mail: dimakuzyanov2000@gmail.com

Contribution: Kuzyanov D.A. – concept and design of the study, material collection, statistical data processing, manuscript writing; Moiseeva E.M. – material collection and processing, manuscript writing; Mikerov A.N. – editing, approval of the final manuscript version; Erdniev L.P. – editing; Lutceвич I.N. – editing, approval of the final manuscript version. 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 study had no sponsorship.

Received: March 24, 2026 / Accepted: May 20, 2026 / Published: June 18, 2026

Введение

Оценка качества и безопасности воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения (далее – водоисточников) в Российской Федерации включает проведение лабораторных исследований, в том числе для количественного определения химических веществ в соответствии с требованиями нормативно-методических документов (СанПиН 1.2.3685–21¹, МР 2.1.4.0176–20² и др.). Однако данный подход не в полной мере учитывает вероятность развития негативных эффектов, обусловленных сочетанным воздействием химических веществ и продуктов их трансформации, а также наличием химических веществ, не входящих в перечень контролируемых показателей (МР 2.1.4.0176–20²) [1]. В связи с этим потенциальные риски для здоровья населения, связанные с воздействием химического фактора среды обитания, могут быть значительно

выше, что обуславливает необходимость дополнения существующего подхода к гигиенической оценке качества среды обитания человека новыми разработками. Одно из перспективных направлений решения данной задачи – использование альтернативных биологических моделей, в том числе клеточных тест-систем *in vitro* [2].

Для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения целесообразным может стать дополнение традиционных химико-аналитических методов подходами, основанными на использовании биологических объектов, например, клеточных культур желудочно-кишечного тракта человека [2–4]. Культура клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 часто используется для изучения механизмов развития токсических эффектов, ассоциированных с воздействием химических соединений [5–7]. Клетки линии HuTu 80 имеют эпителиальную природу и представляют собой устойчивые патологические клоны клеток поверхности двенадцатиперстной кишки [5, 8, 9]. Клеточная линия HuTu 80 эффективна при оценке микробного загрязнения воды и потенциально может быть использована в дополнение к физико-химическим методам анализа при оценке её качества по санитарно-химическим показателям [10, 11].

¹ СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».

² МР 2.1.4.0176–20 «Организация мониторинга обеспечения населения качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения».

Цель исследования — обоснование применения культуры клеток человека HuTu 80 для выявления химического загрязнения воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения по результатам экспериментального моделирования.

Материалы и методы

В рамках исследования использовали пробы воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения ($n = 10$), отобранные в 2024–2025 гг. в Саратовской, Астраханской областях и Республике Калмыкия. Отбор, транспортировку и хранение проб осуществляли согласно требованиям ГОСТ 31861–2012³. Санитарно-химические исследования проб воды проводили в лаборатории физико-химического анализа Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора с применением титриметрического, спектрофотометрического методов анализа и атомно-абсорбционной спектроскопии. Качество воды оценивали по расширенному перечню показателей (45 физико-химическим показателям), включая обязательный минимум (МР 2.1.4.0176–20²), в соответствии с нормативными значениями, установленными СанПиН 1.2.3685–21¹.

Для моделирования химического состава нативных проб воды применяли водные растворы солей с рассчитанными массовыми концентрациями хлорид-ионов (NaCl и CaCl₂), сульфат-ионов (Na₂SO₄), ионов магния (MgSO₄ · 5H₂O), ионов лития (Li₂SO₄). В работе использовали реактивы квалификации ч.д.а. (АО «Вектон», Санкт-Петербург). В качестве тест-объекта для оценки эффектов воздействия проб воды и модельных растворов использовали перевиваемую монослойную линию аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 (источник получения культуры — центр коллективного пользования «Коллекция культур клеток позвоночных» Института цитологии РАН, Санкт-Петербург). Клетки линии HuTu 80 культивировали в полной среде DMEM (ПанЭко, Россия), содержащей 1% незаменимых аминокислот, 2 мМ глутамин, 1 мМ пирувата натрия, 1,5 г/л бикарбоната натрия, 4,5 г/л D-глюкозы, 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (Саргисом, Германия) с добавлением пенициллина/стрептомицина (по 100 ед./мл, Саргисом, Германия). Режим культивирования: температура плюс 37 °С в атмосфере 5%-го CO₂ в культуральном флаконе (NEST Biotechnology Co., LTD., Wuxi, Китай), термостат (Binder GmbH, Германия). В экспериментах использовали клетки, прошедшие не более 10 пассажей [12].

Пробы воды объёмом 2 мл концентрировали путём инкубирования в течение 1,5 ч на водяной бане (LOIP, Россия) при температуре плюс 70 °С. Такой способ обработки позволил концентрировать образцы и одновременно инактивировать вегетативные формы микроорганизмов, что необходимо для работы с культурой клеток *in vitro*. Объём концентрированных проб составлял 25% от исходного (четырёхкратное концентрирование). После охлаждения анализируемой пробы до комнатной температуры её объём восстанавливали до исходного с использованием полной среды DMEM. Для оценки эффективности деконтаминации проб воды выполняли контрольный высеv каждой исследуемой пробы на агаризованную питательную среду LB (Luria-Bertani) [13] в чашках Петри в двух повторностях и инкубировали в течение пяти дней в термостате при температуре плюс 37 °С.

Оценку эффектов воздействия проб воды на культуру клеток HuTu 80 проводили с использованием теста, основанного на ингибировании пролиферации клеток, измеренной по активности митохондриальных дегидрогеназ, восстанавливающих производные тетразолия (МТТ-тест). После достижения 70–90% конфлюентности интактные клетки снимали с культурального флакона с помощью раствора

трипсин-ЭДТА (0,25% трипсина и 0,2% ЭДТА, Sarigom, Германия) и высевали в 96-луночные культуральные планшеты (NEST Biotechnology Co., LTD., Wuxi, Китай) с плотностью посева $1 \cdot 10^4$ клеток на лунку. Клетки инкубировали в планшетах до образования 70% монослоя в течение 48 ч, после чего среду удаляли и заполняли лунки пробами воды, подготовленными согласно приведённому выше способу (восемь лунок для анализа одной пробы воды). В качестве контрольных образцов лунки с клетками заполняли 200 мкл культуральной среды, содержащей 25% дистиллированной воды и 75% полной среды DMEM.

Модельные поллютанты растворяли в среде DMEM, стерилизовали фильтрованием через шприцевую фильтрующую насадку с диаметром пор 0,1 мкм и добавляли по 50 мкл в лунки, содержащие 150 мкл полной среды DMEM. Клетки со средой на основе подготовленных проб воды или растворов модельных поллютантов инкубировали в течение 48 ч при температуре плюс 37 °С в атмосфере 5%-го CO₂. По окончании инкубации среду удаляли и добавляли к клеткам 100 мкл раствора МТТ (3(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид, Sisco Research Laboratory Pvt. Ltd., Индия) до концентрации 1 мг/мл и инкубировали в течение трёх часов в тех же условиях. Раствор МТТ удаляли, образовавшиеся в жизнеспособных клетках кристаллы формазана растворяли в 200 мкл 99%-го диметилсульфоксида (DMSO, Molekula Ltd., Великобритания) и инкубировали в течение 15 мин в тех же условиях.

Значение МТТ-теста как опытных, так и контрольных повторностей определяли как разницу средних значений оптической плотности элюата, измеренной при 530 и 620 нм с использованием планшетного анализатора (Пикон, Россия).

Жизнеспособность клеток рассчитывали по формуле (1):

$$\text{Жизнеспособность} = (OP_o / OP_k) \cdot 100\%, \quad (1)$$

где OP_o — разница оптической плотности элюата опытной группы при длинах волн 530 и 620 нм; OP_k — разница оптической плотности элюата контрольной группы при длинах волн 530 и 620 нм.

Эффекты воздействия проб воды на культуру клеток HuTu 80 оценивали по статистически значимому ($p < 0,05$) изменению их дыхательной активности после 48-часовой инкубации с исследуемой пробой воды по сравнению с контролем (дыхательная активность клеток после 48-часовой инкубации в полной среде принята за 100%).

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 7.0, StatSoft Inc и Microsoft Excel 2010. Оценивали средние значения и стандартные отклонения, использовали двусторонний t -критерий Стьюдента, а также однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением F -критерия Фишера и последующей процедурой множественных сравнений по Тьюки при уровне значимости $p < 0,05$. Определение эффективных концентраций ионов неорганических веществ (ЕС₅₀) и их 95%-х доверительных интервалов осуществляли при помощи пробит-анализа с использованием программного обеспечения EpA Benchmark Dose Software (BMDS, версия 3.3, U.S. Environmental protection Agency).

Результаты

Физико-химический анализ проб воды водоисточников выявил превышение нормативных показателей содержания химических веществ в пяти пробах. Диапазон превышений гигиенических нормативов по санитарно-химическим показателям в исследованных пробах составил от 1 до 2,7 ПДК. Параллельно с физико-химическим анализом оценивали эффекты воздействия проб воды на культуру клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80. Результаты приведены в табл. 1.

Согласно результатам, представленным в табл. 1, шесть исследуемых проб воды оказывали влияние на метаболиче-

³ ГОСТ 31861–2012 «Вода. Общие требования к отбору проб».

Таблица 1 / Table 1

Результаты физико-химического анализа и оценки эффектов воздействия проб воды водосточников на метаболическую активность культуры клеток HuTu 80**Results of physicochemical analysis and assessment of the effects of water source samples on the metabolic activity of the HuTu 80 cell line**

Номер пробы Sample number	Превышение нормативных показателей в пробе воды – nПДК согласно СанПиН 1.2.3685–21 Exceedance of regulatory limits in the water sample – nMAC in accordance with SanPiN 1.2.3685–21	Жизнеспособность культуры клеток, % (значение МТТ-теста опытной / контрольной групп, $M \pm m$) Viability of the cell culture, % (MTT assay values for the experimental / control groups, $M \pm m$)
1	Хлориды – 2.7 ПДК / Chlorides – 2.7 MAC Магний – 2.3 ПДК / Magnesium – 2.3 MAC Сульфаты – 1.5 ПДК / Sulfates – 1.5 MAC Натрий – 2.4 ПДК / Sodium – 2.4 MAC	42.10* (0.264 ± 0.057 / 0.627 ± 0.016)
2	Хлориды – 1.5 ПДК / Chlorides – 1.5 MAC Магний – 1.8 ПДК / Magnesium – 1.8 MAC Сульфаты – 1.2 ПДК / Sulfates – 1.2 MAC Натрий – 2.2 ПДК / Sodium – 2.2 MAC	85.86* (0.674 ± 0.027 / 0.785 ± 0.014)
3	Хлориды – 1.0 ПДК / Chlorides – 1.0 MAC Магний – 1.2 ПДК / Magnesium – 1.2 MAC	98.09 (0.770 ± 0.028 / 0.785 ± 0.014)
4	Хлориды – 1.4 ПДК / Chlorides – 1.4 MAC Магний – 1.1 ПДК / Magnesium – 1.1 MAC	104.63 (0.656 ± 0.071 / 0.627 ± 0.016)
5	Литий – 2.0 ПДК / Lithium – 2.0 MAC	58.4* (0.426 ± 0.010 / 0.731 ± 0.022)
6	Превышений не выявлено / No exceedances were detected	85.98* (0.675 ± 0.020 / 0.785 ± 0.014)
7	Превышений не выявлено / No exceedances were detected	119.78* (0.751 ± 0.031 / 0.627 ± 0.016)
8	Превышений не выявлено / No exceedances were detected	131.10* (0.822 ± 0.05 / 0.627 ± 0.016)
9	Превышений не выявлено / No exceedances were detected	101.66 (0.798 ± 0.025 / 0.785 ± 0.014)
10	Превышений не выявлено / No exceedances were detected	103.03 (0.646 ± 0.028 / 0.627 ± 0.016)

Примечание. Значение МТТ-теста опытных и контрольных групп определяли как разницу средних значений оптической плотности элюата, измеренной при 530 и 620 нм. Жизнеспособность культуры клеток в контрольной группе составляла 100%; * – результаты МТТ-теста исследуемой пробы воды статистически значимо отличались от контрольной пробы ($p < 0,05$).

Note: The MTT assay values for the experimental and control groups were determined as the difference between the mean optical density of the eluate measured at 530 nm and 620 nm. The viability of the cell culture in the control group was considered to be of 100%; * – results of the MTT assay for the water sample studied were significantly different from the control ($p < 0.05$).

скую активность культуры клеток HuTu 80 в условиях 48-часовой экспозиции. Пробы воды № 1, 2 и 5 вызывали развитие цитотоксического эффекта, проявляющегося в статистически значимом снижении метаболической активности клеток на 57,9, 14,1 и 36,2% соответственно по сравнению с контролем (100%) при $p < 0,05$. Превышение гигиенических нормативов в указанных пробах воды составляло от 1,5 до 2,7 ПДК для хлоридов, от 1,8 до 2,3 ПДК для магния, от 1,2 до 1,5 ПДК для сульфатов, от 2,2 до 2,4 ПДК для натрия, 2 ПДК для лития.

Наличие превышений гигиенических нормативов по отдельным химическим веществам в пробах воды № 3 и 4 (до 1,4 ПДК по хлорид-ионам и ионам магния) не сопровождалось проявлением негативного эффекта. Вместе с тем пробы воды № 6, 7 и 8 вызывали статистически значимое изменение метаболической активности клеток по сравнению с контролем ($p < 0,05$), несмотря на отсутствие превышений гигиенических нормативов содержания химических веществ (см. табл. 1).

Для установления связи между содержанием химических веществ в концентрациях, превышающих гигиенические нормативы, и изменением метаболической активности культуры клеток при их воздействии состав исследуемых проб воды был воспроизведён в модельных экспериментах. В химический состав модельных растворов включали вещества, идентифицированные по результатам настоящего исследования как приоритетные загрязнители воды водосточников (ионы лития, натрия, магния, а также хлорид- и сульфат-ионы) в концентрациях, соответствующих нативным пробам воды № 1, 2, 3, 4, 5. Результаты представлены в табл. 2.

Воздействие модельных растворов и соответствующих им нативных проб проявлялось в статистически значимом

снижении метаболической активности клеток по сравнению с контролем ($p < 0,01$). Различия в процентном изменении жизнеспособности культуры клеток HuTu 80 при воздействии нативных проб воды № 2, 3, 4, 5 и соответствующих им модельных растворов были статистически незначимы ($p > 0,05$). При этом метаболическая активность клеток при воздействии нативной пробы № 1 и её модельного раствора статистически значимо различалась (разница эффектов воздействия составила 42,7%) (см. табл. 2).

Модельные растворы солей, ионный состав которых соответствовал пробам воды № 3 и № 4 (превышения до 1,4 ПДК), не вызывали статистически значимого снижения метаболической активности клеток (жизнеспособность 98,1 и 104,6% соответственно; $p > 0,05$) по сравнению с контролем, что согласуется с данными, полученными при оценке эффектов воздействия соответствующих нативных проб ($p < 0,05$) (см. табл. 2).

Для установления связи между концентрациями ионов магния, лития, натрия, а также хлорид- и сульфат-ионов в воде и их влиянием на метаболическую активность клеточной линии HuTu 80 определяли эффективные концентрации (EC_{20}) ионов (табл. 3).

Установлено, что расчётные значения EC_{20} для ионов магния, натрия, хлорид- и сульфат-ионов превышают установленные гигиенические нормативы их содержания в воде (до 5,5 ПДК) (см. табл. 3). При этом отмечена высокая чувствительность культуры клеток HuTu 80 к ионам лития, проявляющаяся при концентрациях ниже предельно допустимых.

Для оценки совместного влияния химических веществ на метаболическую активность культуры клеток HuTu 80 определены эффекты воздействия отдельных соединений в концентрациях, соответствующих пробе № 1, характеризующейся наибольшим числом показателей, превышающих предельно

Таблица 2 / Table 2

Результаты оценки жизнеспособности культуры клеток HuTu 80 при воздействии нативных проб воды и модельных растворов
Results of the HuTu 80 cell line viability assessment under the exposure to native water samples and model solutions

Номер пробы Sample number	Жизнеспособность культуры клеток при воздействии нативной пробы воды, % (значение МТТ-теста опытной / контрольной групп, $M \pm m$)	Жизнеспособность культуры клеток при воздействии модельного раствора, % (значение МТТ-теста опытной / контрольной групп, $M \pm m$)
	Viability of the cell under the influence of the native water sample, % (MTT assay value in the experimental group / control group, $M \pm m$)	Viability of the cell culture under the influence of the model solution, % (MTT assay values for the experimental / control groups, $M \pm m$)
1	42.1*# (0.264 ± 0.057 / 0.627 ± 0.016)	84.8*# (0.642 ± 0.016 / 0.775 ± 0.013)
2	85.9* (0.674 ± 0.027 / 0.785 ± 0.014)	84.6* (0.656 ± 0.015 / 0.775 ± 0.013)
3	98.1 (0.770 ± 0.028 / 0.785 ± 0.014)	98.0 (0.759 ± 0.024 / 0.775 ± 0.013)
4	104.6 (0.656 ± 0.071 / 0.627 ± 0.016)	95.8 (0.742 ± 0.014 / 0.775 ± 0.013)
5	58.4* (0.426 ± 0.010 / 0.731 ± 0.022)	61.1* (0.418 ± 0.030 / 0.684 ± 0.009)

Примечание. Значение МТТ-теста опытных и контрольных групп определяли как разницу средних значений оптической плотности элюата, измеренной при 530 и 620 нм. Жизнеспособность культуры клеток в контрольной группе составляла 100%; * – результаты МТТ-теста исследуемой пробы воды статистически значимо отличались от контрольной пробы ($p < 0,05$); # – статистически значимые различия между значениями нативной пробы и соответствующего модельного раствора ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента).

Note: The MTT assay values for the experimental and control groups were determined as the difference between the mean optical density of the eluate measured at 530 nm and 620 nm. The viability of the cell culture in the control group was considered to be 100%; * – results of the MTT assay for the water sample studied were significantly different from the control ($p < 0.05$); # – statistically significant differences between the values of the native sample and the corresponding model solution ($p < 0.05$ according to the Student's criterion).

Таблица 3 / Table 3

Эффективные концентрации неорганических ионов для культуры клеток HuTu 80
Effective concentrations of inorganic ions for the HuTu 80 cell line

Ион Ion	ПДК, мг/л MAC, mg/L	ЕС ₂₀ (95% ДИ), мг/л EC ₂₀ (95% CI), mg/L	nПДК nMAC
Li ⁺	0,03	0.02 (0.00585–0.0719)	0.67
SO ₄ ²⁻	500	1005.6 (730.7–1376.3)	2.0
Mg ²⁺	50	115.4 (77.4–137.1)	2.3
Cl ⁻	350	1259.7 (1033.1–1534.2)	3.6
Na ⁺	200	1100.9 (1001.7–1200.1)	5.5

допустимые значения. В ходе исследования были приготовлены растворы солей MgSO₄, Na₂SO₄, CaCl₂ и NaCl с содержанием ионов в концентрациях, соответствующих пробе № 1. Влияние растворов солей на метаболическую активность клеток было оценено в сравнении между собой, а также с модельным раствором и контролем (без токсикантов) (табл. 4).

Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) показали, что ионы, вносимые в составе солей модельного раствора № 1 (Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻), в различной степени влияли на метаболическую активность клеток по сравнению с контролем. Статистически значимое из-

менение метаболизма клеток наблюдалось при воздействии сульфат-содержащих солей MgSO₄ ($p = 0,039$) и Na₂SO₄ ($p = 0,0291$). При этом сочетанное воздействие компонентов модельной пробы № 1 вызывало наиболее выраженное снижение жизнеспособности культуры ($p = 0,0001$).

Обсуждение

Наличие в воде источников хозяйственно-питьевого водопользования химических веществ в концентрациях, превышающих нормативные величины, является потенциальной угрозой для здоровья населения и ухудшает гигиенические условия водопользования. В связи с этим возрастает интерес к разработке и применению методов, основанных на использовании биологических моделей в системе *in vitro* в качестве маркёров ухудшения качества воды по санитарно-химическим показателям [14, 15]. С целью определения перспективности применения культуры клеток двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 для выявления химического загрязнения проб воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения нами впервые было проведено исследование нативных проб воды, а также выполнено экспериментальное моделирование воздействия выявленных поллютантов (ионов магния, натрия, лития, хлорид- и сульфат-ионов).

Сопоставление результатов оценки эффектов воздействия нативных проб воды на культуру клеток HuTu 80

Таблица 4 / Table 4

Влияние модельной пробы воды и её компонентного состава на метаболическую активность культуры клеток HuTu 80
The influence of a model water sample and its component composition on the metabolic activity of the HuTu 80 cell line

Проба воды (жизнеспособность культуры клеток по результатам МТТ теста, %) Water sample (cell culture viability based on MTT assay results, %)	Токсикант (жизнеспособность культуры клеток по результатам МТТ теста, %) Toxicant (cell culture viability based on MTT assay results, %)				Модельный раствор пробы № 15 (84.8%) Model solution of sample № 15 (84.8%)
	MgSO ₄ (89.0%)	Na ₂ SO ₄ (92.2%)	CaCl ₂ (98.8%)	NaCl (101.8%)	
Модельный раствор пробы № 15 (84.8%) Model solution of sample № 15 (84.8%)	$p = 0.0390$	$p = 0.0291$	$p = 0.0001$	$p = 0.0001$	–
Контроль (100%) / Control (100%)	$p = 0.0002$	$p = 0.0003$	$p = 0.9985$	$p = 0.9864$	$p = 0.0001$

Примечание. В скобках указано значение жизнеспособности культуры клеток по результатам МТТ-теста (% от контроля). Значения p приведены для парных сравнений между соответствующими пробами воды и токсикантами. Жизнеспособность культуры клеток в контрольной группе (дистиллированная вода) составляла 100%.

Note: Values in parentheses indicate cell culture viability as determined by the MTT assay (% of control). p -values are provided for pairwise comparisons between corresponding water samples and toxicants. Cell culture viability in the control group (distilled water) was of 100%.

с их химическим составом позволило установить связь изменения метаболической активности клеток с содержанием в пробах некоторых ионов. Так, снижение метаболической активности клеток проявлялось в ответ на воздействие проб воды, в которых зафиксировано превышение гигиенических нормативов содержания хлоридов (до 2,7 ПДК), магния (до 2,3 ПДК), сульфатов (до 1,5 ПДК), натрия (до 2,4 ПДК) и лития (до 2 ПДК). Полученные результаты подтверждаются данными экспериментального моделирования воздействия растворов солей (соответствующих по составу нативным пробам), согласно которым изменения метаболической активности культуры клеток в нативных пробах и модельных вариантах не имели достоверных различий ($p > 0,05$).

Важно отметить, что наличие превышений нормативных значений до 1,4 ПДК по содержанию ионов магния и хлорид-ионов не приводило к изменению метаболической активности на клеточном уровне, что согласуется с тем, что данные химические вещества являются малотоксичными. Негативное воздействие ионов магния, натрия, лития, хлоридов и сульфатов в тех пробах, где оно было зафиксировано, вероятнее всего, определяется осмотическим стрессом, нарушением ионного гомеостаза и фрагментацией ДНК [16–19].

Проба воды водоисточника представляет собой сложный многокомпонентный раствор, в котором химические вещества присутствуют в различных концентрациях и сочетаниях. Согласно результатам моделирования сочетанного воздействия приоритетных загрязнителей воды водоисточников на культуру клеток HuTu 80, установлено, что эффект смеси веществ (модельной пробы) был статистически значимо выше по сравнению с их влиянием по отдельности. Наиболее выраженное изменение метаболической активности зафиксировано при воздействии на культуру клеток нативной пробы воды № 1 (жизнеспособность клеток 42%) по сравнению с модельным раствором (жизнеспособность клеток 84,8%), что обусловлено комбинированным действием всех содержащихся в пробе воды химических веществ, а также, вероятно, присутствием загрязнителей, не вошедших в перечень оцениваемых в ходе химико-аналитического исследования.

Для определения чувствительности культуры клеток к содержанию в воде приоритетных загрязнителей проведена оценка их эффективных концентраций. Показано, что чувствительность культуры клеток к ионам натрия, магния, сульфат- и хлорид-ионам на уровне 20%-го изменения метаболической активности соответствует концентрациям веществ от 2 до 5,5 ПДК. Чувствительность к ионам лития проявлялась при концентрациях ниже предельно допустимой, что демонстрирует потенциал применения культуры клеток линии HuTu 80 для мониторинговых исследований и выявления химического загрязнения воды водоисточников данными веществами.

Процесс идентификации загрязняющих веществ, не входящих в обязательный перечень показателей, контролируемых в воде водоисточников в рамках надзорных мероприятий, требует проведения расширенных лабораторных

исследований качества воды. Согласно МР 2.1.4.0176–20², комплексная оценка качества воды водоисточника с использованием расширенного перечня показателей должна проводиться не реже одного раза в пять лет. Однако в условиях чрезвычайных ситуаций или при антропогенном загрязнении, сопровождающемся поступлением в водоисточник химических веществ, в том числе ранее не идентифицированных, культура клеток HuTu 80 потенциально может быть использована в качестве тест-объекта для оперативного выявления загрязнения воды химическими веществами.

Так, выявленное изменение метаболической активности клеток HuTu 80 при воздействии проб воды водоисточников, в которых не были зафиксированы превышения нормативных значений показателей, потенциально может свидетельствовать о наличии химических веществ, не вошедших в перечень контролируемых, и выступать в качестве основания для проведения расширенного химико-аналитического исследования водоисточника с целью идентификации конкретных соединений, чувствительность к которым культуры клеток известна по результатам лабораторных испытаний.

Отсутствие специфичной реакции культуры клеток человека к химическому составу воздействующей пробы воды и обоснованного механизма переноса результатов на организм человека определяет необходимость проведения дальнейших исследований для выявления патогенетических маркеров, характеризующих развитие общих токсических процессов в культуре клеток (в том числе аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80) и организме человека.

Заключение

Экспериментальное моделирование воздействия отдельных химических веществ в концентрациях, превышающих предельно допустимые, показало, что последние могут оказывать влияние на метаболическую активность культуры клеток HuTu 80. Наибольшая чувствительность клеток HuTu 80, проявляющаяся при концентрациях, сопоставимых с установленными гигиеническими нормативами (0,7 ПДК), отмечена к ионам лития. Реакция клеток на воздействие отдельных приоритетных загрязнителей в воде водоисточников в большинстве случаев соотносилась с результатами моделирования химического состава нативных проб № 2, 3, 4, 5, исключение составила проба № 1. В последнем случае реакция культуры клеток могла быть обусловлена присутствием веществ, воздействие которых не учитывалось при моделировании химического состава (или не вошедших в перечень оцениваемых по результатам физико-химического анализа). Таким образом, результаты проведенного исследования нативных проб воды источников хозяйственно-питьевого водопользования населения и экспериментального моделирования их состава на основе впервые примененного нами подхода продемонстрировали перспективность использования культуры клеток HuTu 80 для выявления химического загрязнения

Литература

(п.п. 3–19 см. References)

1. Комбарова М.Ю., Савельева Е.И., Петунов С.Г., Радиллов А.С., Рембовский В.Р., Аликбаева Л.А. Химическая безопасность Российской Федерации. Проблемы и пути решения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2018; 20(3): 383–97. <https://elibrary.ru/yphkqp>
2. 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>

References

1. Kombarova M.Yu., Saveleva E.I., Petunov S.G., Radilov A.S., Rembovsky V.R., Alikbaeva L.A. Chemical safety of the Russian Federation. Problems and ways of solutions. *Meditsina ekstremal'nykh situatsii*. 2018; 20(3): 383–97. <https://elibrary.ru/yphkqp> (in Russian)
2. 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 Sanitariya (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> (in Russian)

3. Husejnovic 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>
4. Ma J.Y., Bao X.C., Tian W., Cui D.L., Zhang M.Y., Yang J., et al. 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>
5. Ryu B., Son M.Y., Jung K.B., Kim U., Kim J., Kwon O., et al. Next-generation intestinal toxicity model of human embryonic stem cell-derived enterocyte-like cells. *Front. Vet. Sci*. 2021; 8: 587659. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.587659>
6. Actis-Goretta L., Romanczyk L.J., Rodriguez C.A., Kwik-Urbe C., Keen C.L. Cytotoxic effects of digalloyl dimer procyanidins in human cancer cell lines. *J. Nutr. Biochem*. 2008; 19(12): 797–808. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.10.004>
7. Engelbrecht I., Horn S.R., Giesy J.P., Pieters R. Quantification of pesticides and in vitro effects of water-soluble fractions of agricultural soils in South Africa. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 2025; 88(2): 230–50. <https://doi.org/10.1007/s00244-025-01115-y>
8. Riedel K., Sombroek D., Fiedler B., Siems K., Krohn M. Human cell-based taste perception – a bitter-sweet job for industry. *Nat. Prod. Rep*. 2017; 34(5): 484–95. <https://doi.org/10.1039/C6NP00123H>
9. Park M., Cho Y.L., Choi Y., Min J.K., Park Y.J., Yoon S.J., et al. Particulate matter induces ferroptosis by accumulating iron and dysregulating the antioxidant system. *BMB Rep*. 2023; 56(2): 96. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2022-0139>
10. Horn S., Pieters R., Bezuidenhout C. Pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria from drinking-water boreholes. *J. Water Health*. 2016; 14(6): 890–900. <https://doi.org/10.2166/wh.2016.009>
11. Prinsloo S., Pieters R., Bezuidenhout C.C. A cell viability assay to determine the cytotoxic effects of water contaminated by microbes. *S. Afr. J. Sci*. 2013; 109(7): 1–4.
12. Saringen S., Rozdzinski E., Muscholl-Silberhorn A., Marre R. Aggregation substance increases adherence and internalization, but not translocation, of *Enterococcus faecalis* through different intestinal epithelial cells *in vitro*. *Infect. Immun*. 2000; 68(10): 6044–7. <https://doi.org/10.1128/iai.68.10.6044-6047.2000>
13. Bertani G. Studies on lysogenesis I: the mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol*. 1951; 62(3): 293–300. <https://doi.org/10.1128/jb.62.3.293-300.1951>
14. Sommaggio L.R.D., Mazzeo D.E.C., Pamplona-Silva M.T., Marin-Morales M.A. Evaluation of the potential agricultural use of biostimulated sewage sludge using mammalian cell culture assays. *Chemosphere*. 2018; 199: 10–5. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.144>
15. Jabłońska-Trypuć A. Human cell culture, a pertinent *in vitro* model to evaluate the toxicity of landfill leachate/sewage sludge. A review. *Environments*. 2021; 8(6): 54. <https://doi.org/10.3390/environments8060054>
16. Mirmalek S.A., Jangholi E., Jafari M., Yadollah-Damavandi S., Javidi M.A., Parsa Y., et al. Comparison of *in vitro* cytotoxicity and apoptogenic activity of magnesium chloride and cisplatin as conventional chemotherapeutic agents in the MCF-7 cell line. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2016; 17(S3): 131–4. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.S3.131>
17. Morland C., Pettersen M.N., Hassel B. Hyperosmolar sodium chloride is toxic to cultured neurons and causes reduction of glucose metabolism and ATP levels, an increase in glutamate uptake, and a reduction in cytosolic calcium. *Neurotoxicology*. 2016; 54: 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.03.005>
18. Scott L.N., Bergfeld W.F., Belsito D.V., Hill R.A., Klaassen C.D., Liebler D.C., et al. Final amended safety assessment of sodium sulfate as used in cosmetics. *Int. J. Toxicol*. 2021; 40(1 Suppl.): 86S–94S. <https://doi.org/10.1177/10915818211015921>
19. Ramushu P., Mangoakoane D.D., Makola R.T., Matsebatlela T.M. Lithium induces oxidative stress, apoptotic cell death, and G2/M phase cell cycle arrest in A549 lung cancer cells. *Molecules*. 2025; 30(8): 1797. <https://doi.org/10.3390/molecules30081797>

Сведения об авторах

Кузьянов Дмитрий Андреевич, мл. науч. сотр. лаб. гигиенических методов исследования факторов окружающей среды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: dimakuzyanov2000@gmail.com

Моисеева Елизавета Михайловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. гигиенических методов исследования факторов окружающей среды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: moiseeva-el@mail.ru

Микеров Анатолий Николаевич, доктор биол. наук, руководитель Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, 410012, Саратов, Россия. E-mail: mail@smnecg.ru

Эрдниева Леонид Петрович, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. гигиенических методов исследования факторов окружающей среды Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора, 410022, Саратов, Россия. E-mail: leonid-erdniev@yandex.ru

Луцевич Игорь Николаевич, доктор мед. наук, зав. каф. профильных гигиенических дисциплин ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, 410012, Саратов, Россия. E-mail: ilutsevich@yandex.ru

About the authors

Dmitry A. Kuzyanov, junior researcher, Laboratory of hygienic methods for assessing environmental factors, Saratov Hygiene Medical Research Center “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

Elizaveta M. Moiseeva, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of hygienic methods for assessing environmental factors, Saratov Hygiene Medical Research Center “Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies”, Saratov, 410022, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-9234-4000> E-mail: moiseeva-el@mail.ru

Anatoly N. Mikerov, DSc (Biology), professor, head, Saratov Hygiene Medical Research Center “Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies”, Saratov, 410022, Russian Federation, Department of microbiology, virology and immunology, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-0670-7918> E-mail: mail@smnecg.ru

Leonid P. Erdniev, PhD (Medicine), leading researcher, Laboratory of hygienic methods for assessing environmental factors, 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

Igor N. Lutsevich, DSc (Medicine), head, Department of specialized hygienic disciplines, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, 410012, Russian Federation. E-mail: ilutsevich@yandex.ru