



## Применение культуры фибробластов крысы для оценки токсических свойств воды

И.А. Хлыстов, Т.В. Бушуева, Т.Н. Штин, Е.П. Карпова, П.К. Харьков, А.В. Бугаева, В.Б. Гурвич

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, ул. Попова, д. 30, г. Екатеринбург, 620014, Российская Федерация

### Резюме

**Введение.** Изменение состава воды поверхностных водоемов под воздействием гидрологических, климатических процессов и техногенных сбросов оказывает влияние на ее свойства, которые могут стать опасными для здоровья человека. Мониторинг качества и безопасности воды не учитывает все воздействующие на организм потенциально опасные элементы и их соединения, поскольку появление все новых веществ и рекомбинации уже имеющихся сопровождаются непрерывной трансформацией физико-химического состава воды, обуславливающего ее биологические свойства. Проведенное скрининговое исследование открывает новые перспективы использования метода биотестирования на культурах клеток в качестве подхода к оценке безопасности воды.

**Цель исследования:** апробация метода биотестирования общих показателей воды с использованием культуры клеток фибробластов крысы и регрессионной модели.

**Материалы и методы.** Проведены исследования физико-химических показателей в воде поверхностного питьевого водоисточника в осенний (2020 г.), зимний и летний (2021 г.) сезоны. Безопасность воды оценена с помощью метода МТТ-теста на клетках фибробластов крысы. Построена регрессионная модель клеточного ответа по 20 показателям с выбором наиболее значимых предикторов.

**Результаты.** Выявлены колебания физико-химического состава воды в осенний, зимний и летний сезоны. Превышений по показателям токсичности не обнаружено. Наименьшие значения дегидрогеназной активности культуры клеток фибробластов выявлены при воздействии воды осеннего сезона, тогда как вода летнего сезона наиболее благоприятно влияла на жизнеспособность клеток.

**Выводы.** В разные сезоны года были выявлены изменения физико-химических показателей, характеризующих качество и безопасность воды питьевого водоисточника. Апробация метода биотестирования воды на культуре клеток фибробластов крысы (МТТ-тест), показала чувствительность по отношению к общим показателям качества воды. На основании математического моделирования определен показатель, достоверно характеризующий токсическое воздействие на культуру клеток фибробластов, – растворенная форма железа, которая может служить индикатором изменения метаболических процессов.

**Ключевые слова:** качество воды, источники питьевого водоснабжения, методы биотестирования, цитотоксичность.

**Для цитирования:** Хлыстов И.А., Бушуева Т.В., Штин Т.Н., Карпова Е.П., Харьков П.К., Бугаева А.В., Гурвич В.Б. Применение культуры фибробластов крысы для оценки токсических свойств воды // Здоровье населения и среда обитания. 2023. Т. 31. № 9. С. 38–44. doi: 10.35627/2219-5238/2023-31-9-38-44

## Usage of Rat Fibroblasts to Assess Toxic Properties of Contaminated Water

Ivan A. Khlystov, Tatiana V. Bushueva, Tatiana N. Shtin, Elizaveta P. Karpova,  
Polina K. Kharkova, Alexandra V. Bugaeva, Vladimir B. Gurvich

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers,  
30 Popov Street, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

### Summary

**Introduction:** Changes in the composition of surface water caused by hydrological and climatic processes and anthropogenic effluents affect its properties, making it potentially hazardous to human health. Monitoring of water quality and safety does not take into account all potentially dangerous elements and their compounds the man can be exposed to, since the occurrence of new substances and recombination of existing ones is accompanied by a continuous transformation of the physicochemical composition of water, which determines its biological properties. This screening study opens new perspectives for biological testing on cell cultures as an approach to assessing water safety.

**Objective:** To examine the method of bioassay of general indicators of water using rat fibroblasts and a regression model.

**Materials and methods:** We tested physicochemical parameters of water of a surface drinking water source sampled in fall 2020 and winter–summer 2021 and assessed its safety on rat fibroblast cells using the MTT assay. We then built a regression model of the cellular response based on 20 indicators, with the choice of the most significant predictors.

**Results:** We revealed seasonal fluctuations in the physicochemical composition of surface water with no toxicity limits exceeded. The lowest values of dehydrogenase activity of the fibroblast cell culture were revealed following the exposure to water sampled in autumn while that taken in summer had the most favorable effect on cell viability.

**Conclusions:** We revealed changes in physicochemical indicators characterizing quality and safety of source water in different seasons. Testing of the method of water bioassay (MTT assay) on the culture of rat fibroblast cells showed sensitivity in relation to general indicators of water quality. Based on mathematical modeling, we established that dissolved iron, which can serve as an indicator of changes in metabolic processes, is a parameter that reliably characterizes toxic effects on the fibroblast cell culture.

**Keywords:** water quality, sources of drinking water supply, bioassay methods, cytotoxicity.

**For citation:** Khlystov IA, Bushueva TV, Shtin TN, Karpova EP, Kharkova PK, Bugaeva AV, Gurvich VB. Usage of rat fibroblasts to assess toxic properties of contaminated water. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2023;31(9):38–44. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2023-31-9-38-44

**Введение.** В поверхностных водоемах протекают различные гидрологические, химические и биологические процессы, формирующие физико-химический состав воды. Вариативность показателей качества и безопасности воды является следствием смены сезонов, а также воздействия климатических и техногенных факторов. Однако по изменениям состава воды невозможно оценивать ее токсические свойства и риски для здоровья. Токсичность следует рассматривать как системное свойство воды в целом, а не какого-то одного показателя.

Попадающие в воду природные компоненты и поллютанты подвергаются биологической и химической трансформации, в частности процессам комплексообразования, вследствие чего меняется их растворимость и биодоступность [1–3]. Трансформация опасных загрязнителей в окружающей среде обычно приводит к образованию трудноидентифицируемых соединений. Вредное воздействие компонентов среды можно обнаружить биологическими методами [4]. Выявление наиболее опасных компонентов водной среды путем применения биомаркеров представляется перспективным направлением исследований. Биотестирование применяют при оценке эколого-токсикологической нагрузки на водоемы [5], изучении биомагнификации веществ в пищевых цепях [6]. Зачастую в качестве основного биоиндикатора для изучения аккумуляции веществ используют физиологические и поведенческие показатели гидробионтов [7]. В России действует ряд биологических методов контроля различных видов вод, водных вытяжек из почв и отходов<sup>1,2,3,4,5,6</sup> с применением различных тестовых организмов. Тестовые организмы из разных таксономических групп отличаются особенностями метаболизма и обладают неодинаковой чувствительностью к химическим веществам, а показатели токсического эффекта выражаются в неоднородных единицах, например, в оптической плотности или проценте выживаемости организмов, что затрудняет сравнение полученных результатов биотестирования и их экстраполяцию в отношении организма человека. Как правило, токсичность в таких исследованиях оценивается только в отношении одного компонента, присутствующего в изучаемой среде. В свою очередь, препятствием при использовании теплокровных организмов в качестве тест-объектов считают большую стоимость исследований и трудности с соблюдением правил биоэтики [8].

Дополнением к существующим методам биотестирования может послужить использование культур

клеток. Тесты на общую токсичность, направленные главным образом на выявление биологической активности тестируемых веществ, проводят на клеточных культурах, например фибробластах или раковых клетках [9]. Так, метод МТТ-теста является быстрым и доступным вариантом биотестирования. В основе метода заложена способность восстановления тетразолиевого красителя, которая зависит от клеточной метаболической активности и обусловлена NAD(P)H-зависимыми клеточными оксидоредуктазами [10]. МТТ-тест идеально подходит в качестве диагностического метода для оценки цитотоксичности компонентов различного состава, таких как микотоксины, пестициды, бактериальные культуры, изоляты плесневых грибов, продукты питания, корма, а также широкий спектр проб из объектов окружающей среды [11]. Таким образом, выбор биомаркера должен основываться на его чувствительности к изменяющимся свойствам воды. В дальнейшем открываются перспективы использования в качестве биомаркеров клеточных линий человека и показателей клеточного метаболизма, чувствительных к определенным соединениям из состава воды, а также использования токсичности в качестве интегрального показателя состояния водного объекта.

**Цель исследования:** апробация метода биотестирования общих показателей воды с использованием культуры клеток фибробластов крысы и регрессионной модели.

**Материалы и методы.** В 2020 и 2021 годах был осуществлен отбор проб воды из зарегулированного на реке водохранилища – источника питьевого водоснабжения крупного города Свердловской области. На разных участках этой реки расположен ряд гидроузлов, а исследуемое водохранилище находится вблизи действующих промышленных объектов. Органолептические и физико-химические показатели измерены стандартными методами. Концентрации углерода измерены методом высокотемпературного окисления, тяжелых металлов – методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Тяжелые металлы также обладают комплексообразующими свойствами [2], что может менять их растворимость и биодоступность в воде. Эксперимент проведен на культуре первичных клеток (фибробласты кожи крысы), полученных в соответствии с описанным протоколом [12]. Фибробласты выбраны в качестве объекта биотестирования ввиду их распространенности в организме в качестве основного компонента соединительной ткани

<sup>1</sup> ФР 1.39.2007.03222. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний.

<sup>2</sup> ФР 1.39.2001.00284. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей.

<sup>3</sup> ПНД Ф Т 14.1:2.3:4.10-04, Т 16.1:2.3:3.7-04. Методика измерений оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления.

<sup>4</sup> ПНД Ф Т 14.1:2.3:4.11-04, Т 16.1:2.3:3.8-04. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм».

<sup>5</sup> ФР.1.31.2009.06301. Методика выполнения измерений индекса токсичности почв, почвогрунтов, вод и отходов по изменению подвижности половых клеток млекопитающих *in vitro*.

<sup>6</sup> ЦОС ПВ Р 005-95. Методические рекомендации по применению методов биотестирования для оценки качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения.

и участии в тканевом гомеостазе [13], а также высокой скорости выращивания в качестве культуры. Количество жизнеспособных клеток в полученной культуре определяли с помощью счетчика клеток LUNA-II (Logos Biosystems, Корея). Перед посадкой клеточной культуры в планшеты для проведения эксперимента из суспензии клеток отбирали 20 мкл и смешивали с эквивалентным объемом красителя трипанового синего. Полученную суспензию переносили в одноразовый слайд для подсчета клеток в приборе. Жизнеспособность культуры составила около 80 %. Клетки высевали в 96-луночный планшет (TPP Techno Plastic Products AG, Trasadingen, Switzerland) и инкубировали в течение 24 часов в стандартных условиях до добавления анализируемых проб воды.

Для количественной оценки цитотоксического эффекта определяли дегидрогеназную активность фибробластов (МТТ-тест). Использовали желтый тетразолиевый краситель (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид) (Sigma Aldrich, США), который восстанавливается в пурпурный формазан в живых клетках. В качестве растворяющего компонента использовали диметилсульфоксид (ДМСО). В каждую лунку с клетками добавляли по 20 мкл МТТ красителя в концентрации 5 мг/дм<sup>3</sup> и инкубировали в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °C в течение 2 часов. После этого из планшетов полностью удаляли среду и в каждую лунку добавляли по 100 мкл ДМСО для растворения кристаллов формазана. Оптическую

плотность измеряли на спектрофотометре Epoch™ (BioTek, США) при длине волны 490 нм. Результаты рассчитывали по формуле:

$$\text{дегидрогеназная активность (\%)} = 100 \times \frac{A_{490 \text{ нм опытный образец}} - A_{490 \text{ нм blank}}}{A_{490 \text{ нм контроль}} - A_{490 \text{ нм blank}}} \quad (1),$$

где  $A_{490 \text{ нм}}$  – оптическая плотность образца при длине волны 490 нм,  $blank$  – оптическая плотность фона (культуральной среды).

На основании выборки из результатов трех опытов построена регрессионная модель зависимости дегидрогеназной активности (группирующая переменная) от физико-химических показателей с выбором наиболее значимых.

**Результаты.** В табл. 1 представлены результаты исследований физико-химического состава воды, в табл. 2 – результаты оценки токсических свойств воды.

Максимальные значения органолептических показателей цветности и мутности выявлены летом 2021 г. По показателю pH природная вода охарактеризована как слабощелочная. В зимнее время выявлены максимумы содержания сухого остатка, жесткости, нитрит- и нитрат-ионов, растворенного общего и органического углерода, растворенных форм меди, марганца и стронция. Увеличение концентрации железа (по сравнению с осенним сезоном) составило 1,7 раза зимой, 2,1 раза летом. Выявлены увеличения значений показателей в зимнее и летнее время (в сравнении с осенью):

**Таблица 1. Результаты исследований состава воды из поверхностного питьевого источника**  
**Table 1. Results of seasonal surface water testing**

| Показатель, ед. изм. / Indicator, units of measurement                                                   | ПДК / MAC | Дата отбора проб / Sampling season |               |               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------|---------------|---------------|
|                                                                                                          |           | Осень / Fall                       | Зима / Winter | Лето / Summer |
| Запах при 20 °C, ед. / Odor at 20 °C, U                                                                  | 2,0       | 0,0                                | 0,0           | 1,0           |
| Запах при 60 °C, ед. / Odor at 60 °C, U                                                                  | 2,0       | 2,0                                | 1,0           | 1,0           |
| Цветность, град. цветн. / Color, hail. coloured                                                          | 20,0      | 6,4                                | 25,2 (1,3)    | 64,4 (3,2)    |
| Мутность, ЕМФ / Turbidity, FTU                                                                           | 2,6       | 0,5                                | 0,9           | 5,3 (2,0)     |
| pH, ед. / U                                                                                              | 6,0–9,0   | 7,6                                | 7,5           | 7,8           |
| Сухой остаток, мг/дм <sup>3</sup> / Suspended sediment, mg/dm <sup>3</sup>                               | 1000,0    | 185,0                              | 191,0         | 130,0         |
| ПО, мг/О дм <sup>3</sup> / Permanganate index, mg/O dm <sup>3</sup>                                      | 5,0       | 14,3 (2,9)                         | 10,7 (2,1)    | 5,9 (1,2)     |
| Жесткость, град. жестк. / Water hardness, degree                                                         | 7,0       | 2,0                                | 2,5           | 2,1           |
| Нитрит-ионы, мг/дм <sup>3</sup> / Nitrite ions, mg/dm <sup>3</sup>                                       | 3,0       | 0,002                              | 0,031         | 0,023         |
| Ионы аммония, мг/дм <sup>3</sup> / Ammonium ions, mg/dm <sup>3</sup>                                     | 2,0       | 0,050                              | 0,050         | 0,300         |
| Нитрат-ионы, мг/дм <sup>3</sup> / Nitrate ions, mg/dm <sup>3</sup>                                       | 45,0      | 0,370                              | 0,720         | 0,190         |
| Растворенный общий углерод, мг/дм <sup>3</sup> / Total dissolved carbon, mg/dm <sup>3</sup>              | –         | 25,3                               | 32,9          | 30,4          |
| Растворенный органический углерод, мг/дм <sup>3</sup> / Dissolved organic carbon, mg/dm <sup>3</sup>     | –         | 9,2                                | 17,9          | 13,4          |
| Растворенный неорганический углерод, мг/дм <sup>3</sup> / Dissolved inorganic carbon, mg/dm <sup>3</sup> | –         | 16,1                               | 14,9          | 17,0          |
| Cu <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 1,0       | 0,003                              | 0,006         | 0,003         |
| Mn <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 0,1       | 0,002                              | 0,061         | 0,025         |
| Sr <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 7,0       | 0,092                              | 0,123         | 0,119         |
| Pb <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 0,01      | 0,000                              | 0,005         | 0,010         |
| Al <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 0,2       | 0,022                              | 0,028         | 0,023         |
| Fe <sub>раств.</sub> , мг/дм <sup>3</sup> / dissolved, mg/dm <sup>3</sup>                                | 0,3       | 0,028                              | 0,048         | 0,059         |

**Примечание:** Измерения физико-химических показателей воды за каждый месяц проведены однократно ( $n = 1$ ); ПО – перманганатная окисляемость; величина погрешности каждого показателя лежит в границах установленных методиками пределов; в скобках указана кратность превышения показателя относительно ПДК.

**Note:** We took single measurements of physicochemical water indicators in each month; the error of each indicator is within the limits established by the methods; the multiplicity of MAC (maximum allowable concentration) excess is shown in parentheses.

по мутности – в 10 раз летом, нитрит-ионам – в 15 раз зимой, растворенному свинцу – десятикратное повышение концентрации летом. Не выявлено сезонных закономерностей между изменением значений показателей органического вещества – перманганатной окисляемости и растворенного органического углерода. Выявлены превышения установленных нормативных значений в воде<sup>7</sup> по показателям: цветность, мутность, ПО.

Минимальные значения дегидрогеназной активности культуры клеток фибробластов выявлены при воздействии воды, отобранной в осенний сезон (табл. 2).

Получено уравнение регрессии, описывающее зависимость дегидрогеназной активности от комбинированного воздействия физико-химических показателей природной воды ( $R^2 = 0,99$ ;  $F(1,1) = 1440,8$ ;  $p < 0,017$ ;  $n = 3$ ):

$$\text{дегидрогеназная активность клеток фибробластов} = -53,183 + 2312,146 \times \text{Fe}_{\text{раств}} \quad (2)$$

По результатам регрессионного анализа установлен наиболее значимый предиктор токсичности – растворенная форма железа.

**Обсуждение.** По результатам начатого мониторинга данного водоисточника установлена сезонная вариативность показателей, характеризующих ионный состав, кислотно-основные свойства воды, процессы поступления и трансформации органического вещества [14], что подтверждается текущими исследованиями. Каждый из этих показателей участвует в формировании физико-химических свойств воды и, как было предположено, оказывает влияние на ее токсичность. Наибольшие значения дегидрогеназной активности клеток выявлены летом, что может свидетельствовать о наиболее благоприятном влиянии физико-химическом состава воды на ее физиологические свойства. Из всех показателей физико-химического состава воды наиболее выраженное токсическое воздействие на фибробласты оказал фактор, не проявляющий экстремальных изменений в воде в разные сезоны года и не превышающий установленные нормативные требования, – растворенная форма железа. Железо также влияет на органолептические показатели воды (цветность, мутность) и комплексообразующую способность; лимитирующий показатель вредности – органолептический<sup>7</sup>.

Вклад в содержание железа в водоемах Среднего Урала вносят подстилающие породы и сточные воды промышленных предприятий с повышенным содержанием данного элемента [15, 16]. В Уральском регионе имеются железорудные месторождения [17], вследствие чего происходит повышение фонового содержания железа в почвах и грунтовых водах. Соединения железа аккумулируются на дне водных объектов. Вообще в процессах перераспределения химических соединений внутри осадка и в обмене с придонной водой участвуют в первую очередь реакционноспособные формы химических элементов, растворенные в иловой воде или переходящие в раствор (или в осадок) при соответствующем изменении условий [18]. Растворенная форма железа характеризуется более высокой биологической активностью, чем кристаллизованная. Содержание железа в водоисточниках выше допустимого уровня может привести к токсическим эффектам, влияя на метаболические реакции в живом организме [19]. При определенных условиях содержание ионов железа может стимулировать пролиферацию клеток. В эксперименте по воздействию раствора  $\text{FeSO}_4$  и  $\text{FeCl}_3$  (в концентрации от 50 до 100 мкм) наблюдали пролиферацию фибробластов за счет активного образования кислорода, опосредованного окислительно-восстановительной реакцией с участием железа, за счет присутствия ионов в самой среде, но не за счет доставки железа в клетки [20].

Железо в основном образует комплексы с растворенным органическим веществом в ионной форме, при этом на формирование соединений сильно влияет pH [21]. Известно, что под воздействием растворенных органических соединений увеличивается подвижность металлов [22, 23]. Образующиеся металлорганические соединения могут быть более токсичными для биологических организмов по сравнению с ионной формой металлов<sup>8</sup> [24]. Следовательно, в условиях невысокой концентрации растворенного железа, но при наличии достаточного количества лигандов может увеличиваться его биодоступность и токсичность. Наибольшее значение показателя «перманганатная окисляемость» выявлено осенью в сравнении с другими сезонами. Несмотря на отсутствие пикового значения концентрации растворенного органического углерода, уровень перманганатной окисляемости свидетельствует о преобладании в составе органических веществ доли легкоокисляемых (либо вновь

**Таблица 2. Результаты оценки токсических свойств воды методом МТТ-теста**  
**Table 2. Results of assessing toxic properties of surface water using the MTT assay**

| Дата отбора проб / Sampling season | Значения дегидрогеназной активности (%) ± ошибка среднего / Dehydrogenase activity (%) ± mean error |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Осень / Fall                       | 11,17 ± 1,53                                                                                        |
| Зима / Winter                      | 58,90 ± 3,27                                                                                        |
| Лето / Summer                      | 82,53 ± 3,73                                                                                        |

*Примечание:* Количество измерений (n) показателя дегидрогеназной активности в каждом месяце составляет 12.

*Note:* We took twelve measurements of dehydrogenase activity in each month.

<sup>7</sup> СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. 668 с.

<sup>8</sup> Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. Под ред. Линник П.Н., Набиванец Б.И. Л.: Гидрометеиздат, 1986. 270 с.



поступивших в водоем) соединений. Вероятно, это способствует увеличению доли железа, связанного в комплексы и хелаты.

По результатам эксперимента можно заключить, что токсические свойства воды водохранилища в разные сезоны года определяются растворенной формой железа. При этом важна не концентрация, а сам показатель, играющий одну из ключевых ролей в клеточном метаболизме. Было выдвинуто предположение об усилении токсических свойств железа за счет взаимодействия с подвижными органическими лигандами либо доминирования в воде ионной формы железа в валентности, которая наиболее губительна для клеток.

Проведение скрининговых токсикологических исследований с использованием культур клеток позволило выявить чувствительные биохимические маркеры клеточного метаболизма, поможет выявить ткани и органы, подвергающиеся наибольшему токсическому воздействию. В дальнейшем переход к культурам клеток человека и выбора специфических биохимических показателей будет служить инструментом для идентификации наиболее опасных компонентов в составе воды.

#### Выводы

1. Проведены исследования физико-химических показателей воды, характеризующих ее качество и безопасность. Выявлена существенная вариативность показателей в разные сезоны года: по показателю «мутность» она составляет 10 раз, нитрит-ионам – 15 раз, а также десятикратное увеличение концентраций растворенного свинца.

2. Проведена апробация метода биотестирования воды на культуре клеток фибробластов крысы (МТТ-тест); показана чувствительность данного метода по отношению к компонентам физико-химического состава воды.

3. Установлены изменения клеточного метаболического ответа на состав воды в разные сезоны года. Минимальные значения дегидрогеназной активности культуры клеток выявлены при воздействии воды, отобранной в осенний сезон, а максимальные – в летний. Выявлен предполагаемый предиктор токсических свойств воды – растворенная форма железа.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nikinmaa M. Chapter 6 – Factors affecting the bioavailability of chemicals. In: Nikinmaa M. *Introduction to Aquatic Toxicology*. London: Academic Press Ltd – Elsevier Science Ltd; 2014:65-72. doi: 10.1016/B978-0-12-411574-3.00006-2
2. Моисеенко Т.И. Биодоступность и экотоксичность металлов в водных системах: критические уровни загрязнения // Геохимия. 2019. Т. 64. № 7. С. 675–688. doi: 10.31857/S0016-7525647675-688. EDN: GBYYBL
3. Briffa J, Sinagra E, Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*. 2020;6(9):e04691. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691
4. Лушай Е.А., Иванов Д.Е., Тихомирова Е.И. Разработка и исследование эффективности новых методов быстрой оценки токсичности компонентов окружающей среды при биомониторинге // Поволжский экологический

журнал. 2019. Т. 4. С. 458–469. doi: 10.35885/1684-7318-2019-4-458-469. EDN: UTJPTP.

5. Чуйко Г.М., Томилина И.И., Холмогорова Н.В. Методы биодиагностики в водной экотоксикологии // Токсикологический вестник. 2022. Т. 30. № 5. С. 315–322. doi: 10.47470/0869-7922-2022-30-5-315-322. EDN: OSFNRY.
6. Ali H, Khan E, Ilahi I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *J Chem*. 2019;2019:6730305. doi: 10.1155/2019/6730305
7. Morgalev Y, Dyomin V, Morgalev S, et al. Environmental contamination with micro- and nanoplastics changes the phototaxis of euryhaline zooplankton to paired photostimulation. *Water*. 2022;14(23):3918. doi: 10.3390/w14233918
8. Ostroumov SA. Toxicity testing of chemicals without use of animals. *Russian Journal of General Chemistry*. 2016;86(13):2933–2941. doi: 10.1134/S1070363216130028
9. Ekwall B, Silano V, Paganuzzi-Stammati A, Zucco F. Toxicity tests with mammalian cell cultures. In: Bourdeau P, et al, eds. *Short-term Toxicity Tests for Non-genotoxic Effects*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd; 1990:75–97. Accessed August 7, 2023. [https://scope.dge.carnegiescience.edu/SCOPE\\_41/SCOPE\\_41\\_2.02\\_Chapter\\_7\\_75-98.pdf](https://scope.dge.carnegiescience.edu/SCOPE_41/SCOPE_41_2.02_Chapter_7_75-98.pdf)
10. Bahuguna A, Khan I, Bajpai VK, Kang SC. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. *Bangladesh J Pharmacol*. 2017;12(2):115–118. doi: 10.3329/bjp.v12i2.30892
11. Twarużek M, Zastempowska E, Soszczyńska E, Attyń I. The use of in vitro assays for the assessment of cytotoxicity on the example of MTT test. *Folia Biologica et Oecologica*. 2018;14(1):23–32. doi: 10.1515/fobio-2017-0006
12. Seluanov A, Vaidya A, Gorbunova V. Establishing primary adult fibroblast cultures from rodents. *J Vis Exp*. 2010;44:2033. doi: 10.3791/2033
13. Plikus MV, Wang X, Sinha S, et al. Fibroblasts: Origins, definitions, and functions in health and disease. *Cell*. 2021;184(15):3852–3872. doi: 10.1016/j.cell.2021.06.024
14. Хлыстов И.А., Харьковская П.К., Бугаева А.В., Замолоцких Т.В., Штин Т.Н., Гурвич В.Б. Определение индикативных показателей для организации мониторинга источников питьевого водоснабжения при изменении климатических условий // Здоровье населения и среда обитания. 2022. Т. 9. С. 84–90. doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-9-84-90. EDN: XLHFFT.
15. Oznobikhina LA. Pollution of ecosystem water resources in the Ural Federal District. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 2022;1045:012125. doi: 10.1088/1755-1315/1045/1/012125
16. Флефель Х.Э., Гутова М.О., Донник И.М., Грибовский Ю.Г. Оценка концентрации тяжелых металлов Fe, Zn, Cd и Pb в природных водоисточниках // Аграрный вестник Урала. 2019. № 6(185). С. 44–47. doi: 10.32417/article\_5d47f804ec0943.26307077.
17. Чернышов Н.М., Молотков С.П., Резникова О.Г. Золото-платиноносность главнейших типов железорудных формаций мира (информационно-аналитический обзор) // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Геология. 2003. № 2. С. 137–162. EDN: PJCVEX.
18. Титова К.В., Кокрятская Н.М. Распределение реакционноспособного железа в донных отложениях малых озер // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Естественные науки. 2013. № 2. С. 49–54. EDN: QCOPRP.
19. Han G, Yang K, Zeng J, Zhao Y. Dissolved iron and isotopic geochemical characteristics in a typical tropical river across the floodplain: The potential environmental

- implication. *Environ Res.* 2021;200:111452. doi: 10.1016/j.envres.2021.111452
20. Yabe N, Matsui H. Effects of iron chelates on the transferrin-free culture of rat dermal fibroblasts through active oxygen generation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 1997;33(7):527-535. doi: 10.1007/s11626-997-0095-1
  21. Adusei-Gyamfi J, Ouddane B, Rietveld L, Cornard JP, Criquet J. Natural organic matter-cations complexation and its impact on water treatment: A critical review. *Water Res.* 2019;160:130-147. doi: 10.1016/j.watres.2019.05.064
  22. Ashworth DJ, Alloway BJ. Influence of dissolved organic matter on the solubility of heavy metals in sewage-sludge-amended soils. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2008;39(3-4):538-550. doi: 10.1080/00103620701826787
  23. Kalbitz K, Wennrich R. Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter. *Sci Total Environ.* 1998;209(1):27-39. doi: 10.1016/S0048-9697(97)00302-1
  24. Lee R, Oshima Y. Effects of selected pesticides, metals and organometallics on development of blue crab (*Callinectes sapidus*) embryos. *Mar Environ Res.* 1998;46(1-5):479-482. doi: 10.1016/S0141-1136(97)00072-X
  10. Bahuguna A, Khan I, Bajpai VK, Kang SC. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. *Bangladesh J Pharmacol.* 2017;12(2):115-118. doi: 10.3329/bjpp.v12i2.30892
  11. Twarużek M, Zastempowska E, Soszczyńska E, Ałtyn I. The use of in vitro assays for the assessment of cytotoxicity on the example of MTT test. *Folia Biologica et Oecologica.* 2018;14(1):23-32. doi: 10.1515/fobio-2017-0006
  12. Seluanov A, Vaidya A, Gorbunova V. Establishing primary adult fibroblast cultures from rodents. *J Vis Exp.* 2010;44:2033. doi: 10.3791/2033
  13. Plikus MV, Wang X, Sinha S, et al. Fibroblasts: Origins, definitions, and functions in health and disease. *Cell.* 2021;184(15):3852-3872. doi: 10.1016/j.cell.2021.06.024
  14. Khlystov IA, Kharkova PK, Bugaeva AV, Zamolotskikh TV, Shtin TN, Gurvich VB. Determination of key quality indicators for organization of potable water source monitoring under changing climatic conditions. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya.* 2022;30(9):84-90. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-9-84-90
  15. Oznobikhina LA. Pollution of ecosystem water resources in the Ural Federal District. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci.* 2022;1045:012125. doi: 10.1088/1755-1315/1045/1/012125
  16. Flefel KhE, Gutova MO, Donnik IM, Gribovskiy YuG. Assessment of heavy metals concentration Fe, Zn, Cd, and Pb in natural water sources. *Agrarnyy Vestnik Urala.* 2019;(6(185)):44-47. doi: 10.32417/article\_5d47f804ec0943.26307077
  17. Chernyshov NM, Molotkov SP, Reznikova OG. Gold and platinum content in the most important types of iron ore formations of the world (informational and analytical overview). *Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Geologiya.* 2003;(2):137-162. (In Russ.)
  18. Titova KV, Kokryatskaya NM. Distribution of reactive iron in the bottom deposits of minor lakes. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) Federal'nogo Universiteta. Seriya: Estestvennye Nauki.* 2013;(2):49-54. (In Russ.)
  19. Han G, Yang K, Zeng J, Zhao Y. Dissolved iron and isotopic geochemical characteristics in a typical tropical river across the floodplain: The potential environmental implication. *Environ Res.* 2021;200:111452. doi: 10.1016/j.envres.2021.111452
  20. Yabe N, Matsui H. Effects of iron chelates on the transferrin-free culture of rat dermal fibroblasts through active oxygen generation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 1997;33(7):527-535. doi: 10.1007/s11626-997-0095-1
  21. Adusei-Gyamfi J, Ouddane B, Rietveld L, Cornard JP, Criquet J. Natural organic matter-cations complexation and its impact on water treatment: A critical review. *Water Res.* 2019;160:130-147. doi: 10.1016/j.watres.2019.05.064
  22. Ashworth DJ, Alloway BJ. Influence of dissolved organic matter on the solubility of heavy metals in sewage-sludge-amended soils. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2008;39(3-4):538-550. doi: 10.1080/00103620701826787
  23. Kalbitz K, Wennrich R. Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter. *Sci Total Environ.* 1998;209(1):27-39. doi: 10.1016/S0048-9697(97)00302-1
  24. Lee R, Oshima Y. Effects of selected pesticides, metals and organometallics on development of blue crab (*Callinectes sapidus*) embryos. *Mar Environ Res.* 1998;46(1-5):479-482. doi: 10.1016/S0141-1136(97)00072-X

## REFERENCES

1. Nikinmaa M. Chapter 6 – Factors affecting the bioavailability of chemicals. In: Nikinmaa M. *Introduction to Aquatic Toxicology*. London: Academic Press Ltd – Elsevier Science Ltd; 2014:65-72. doi: 10.1016/B978-0-12-411574-3.00006-2
2. Moiseenko TI. Bioavailability and ecotoxicity of metals in aquatic systems: Critical contamination levels. *Geochemistry International.* 2019;57(7):737-750. doi: 10.31857/S0016-7525647675-688
3. Briffa J, Sinagra E, Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon.* 2020;6(9):e04691. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691
4. Lushchay EA, Ivanov DE, Tikhomirova EI. Development and efficiency assessment of new methods on rapid assessment of toxicity in environmental monitoring. *Povolzhskiy Ekologicheskii Zhurnal.* 2019;(4):458-469. doi: 10.35885/1684-7318-2019-4-458-469
5. Chuiko GM, Tomilina II, Kholmogorova NV. Methods of biodiagnostics in aquatic ecotoxicology. *Toksikologicheskii Vestnik.* 2022;30(5):315-322. (In Russ.) doi: 10.47470/0869-7922-2022-30-5-315-322
6. Ali H, Khan E, Ilahi I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *J Chem.* 2019;2019:6730305. doi: 10.1155/2019/6730305
7. Morgalev Y, Dyomin V, Morgalev S, et al. Environmental contamination with micro- and nanoplastics changes the phototaxis of euryhaline zooplankton to paired photostimulation. *Water.* 2022;14(23):3918. doi: 10.3390/w14233918
8. Ostroumov SA. Toxicity testing of chemicals without use of animals. *Russian Journal of General Chemistry.* 2016;86(13):2933-2941. doi: 10.1134/S1070363216130028
9. Ekwall B, Silano V, Paganuzzi-Stammati A, Zucco F. Toxicity tests with mammalian cell cultures. In: Bourdeau P, et al, eds. *Short-term Toxicity Tests for Non-genotoxic Effects*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd; 1990:75-97. Accessed August 7, 2023. [https://scope.dge.carnegiescience.edu/SCOPE\\_41/SCOPE\\_41\\_2.02\\_Chapter\\_7\\_75-98.pdf](https://scope.dge.carnegiescience.edu/SCOPE_41/SCOPE_41_2.02_Chapter_7_75-98.pdf)

**Сведения об авторах:**

✉ **Хлыстов Иван Андреевич** – к.б.н., научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего лабораторией гигиены окружающей среды и экологии человека отдела комплексных проблем гигиены и профилактики заболеваний населения; e-mail: hlistovia@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4632-6060>.

**Бушуева Татьяна Викторовна** – к.м.н., заведующая научно-производственным отделом «Лабораторно-диагностических технологий»; e-mail: bushueva@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001>.

**Штин Татьяна Николаевна** – к.х.н., заведующая отделом физико-химических методов исследования; e-mail: shtintn@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8846-8016>.

**Карпова Елизавета Павловна** – младший научный сотрудник научно-производственного отдела «Лабораторно-диагностических технологий»; e-mail: karpovaep@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0125-0063>.

**Харькова Полина Константиновна** – младший научный сотрудник лаборатории гигиены окружающей среды и экологии человека отдела комплексных проблем гигиены и профилактики заболеваний населения; e-mail: harkovapk@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7927-0246>.

**Бугаева Александра Владиславовна** – младший научный сотрудник лаборатории гигиены окружающей среды и экологии человека отдела комплексных проблем гигиены и профилактики заболеваний населения; e-mail: bugaeva@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6562-2842>.

**Гурвич Владимир Борисович** – д.м.н., научный руководитель; e-mail: gurvich@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6475-7753>.

**Информация о вкладе авторов:** концепция и дизайн исследования: *Хлыстов И.А., Бушуева Т.В., Гурвич В.Б.*; сбор данных: *Хлыстов И.А., Штин Т.Н., Бушуева Т.В., Карпова Е.П.*; анализ и интерпретация результатов: *Хлыстов И.А., Карпова Е.П., Бушуева Т.В., Штин Т.Н., Харькова П.К., Бугаева А.В.*; обзор литературы: *Хлыстов И.А., Харькова П.К.*; подготовка проекта рукописи: *Хлыстов И.А., Бушуева Т.В.* Все авторы рассмотрели результаты и одобрили окончательный вариант рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** данное исследование не требует представления заключения комитета по био-медицинской этике или иных документов.

**Финансирование:** исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов:** соавтор статьи Гурвич В.Б. является членом редакционного совета научно-практического журнала «Здоровье населения и среда обитания», остальные авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Статья получена: 08.08.23 / Принята к публикации: 10.09.23 / Опубликовано: 29.09.23

**Author information:**

✉ **Ivan A. Khlystov**, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Acting Head of the Laboratory of Environmental Hygiene and Human Ecology, Department of Complex Problems of Hygiene and Disease Prevention; e-mail: hlistovia@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4632-6060>.

**Tatiana V. Bushueva**, Cand. Sci. (Med.), Head of the Research and Production Department "Laboratory and Diagnostic Technologies"; e-mail: bushueva@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5872-2001>.

**Tatiana N. Shtin**, Cand. Sci. (Chem.), Head of the Department of Physical and Chemical Research Methods; e-mail: shtintn@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8846-8016>.

**Elizaveta P. Karpova**, Junior Researcher, Research and Production Department "Laboratory and Diagnostic Technologies"; e-mail: karpovaep@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0125-0063>.

**Polina K. Kharkova**, Junior Researcher, Laboratory of Environmental Health and Human Ecology, Department of Complex Problems of Hygiene and Disease Prevention; e-mail: harkovapk@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7927-0246>.

**Alexandra V. Bugaeva**, Junior Researcher, Laboratory of Environmental Health and Human Ecology, Department of Complex Problems of Hygiene and Disease Prevention; e-mail: bugaeva@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6562-2842>.

**Vladimir B. Gurvich**, Dr. Sci. (Med.), Scientific Director; e-mail: gurvich@ymrc.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6475-7753>.

**Author contributions:** study conception and design: *Khlystov I.A., Bushueva T.V., Gurvich V.B.*; data collection: *Khlystov I.A., Shtin T.N., Bushueva T.V., Karpova E.P.*; analysis and interpretation of results: *Khlystov I.A., Karpova E.P., Bushueva T.V., Shtin T.N., Kharkova P.K., Bugaeva A.V.*; literature review: *Khlystov I.A., Kharkova P.K.*; draft manuscript preparation: *Khlystov I.A., Bushueva T.V.* All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

**Compliance with ethical standards:** Not applicable.

**Funding:** This research received no external funding.

**Conflict of interest:** The coauthor of the article Vladimir B. Gurvich is the Member of the Editorial Council of the journal Public Health and Life Environment; the first author declares that there is no conflict of interest.

Received: August 8, 2023 / Accepted: September 10, 2023 / Published: September 29, 2023