

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Эрдниева Л.П.¹, Бонитенко Е.Ю.², Гусев Ю.С.¹, Микеров А.Н.^{1,3},
Белякова Н.А.²

¹*Саратовский медицинский научный центр гигиены
Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-
профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
410022, г. Саратов, ул. Заречная, здание 1А, строение 1. Россия.
E-mail: mail@smncg.ru*

²*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова Федерального медико-
биологического агентства»
192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1. Россия.
E-mail: institute@toxicology.ru*

³*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет им.
В.И. Разумовского»
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112. Россия
E-mail: meduniv@sgmu.ru*

Резюме.

Введение. Биотестирование является методом, позволяющим устанавливать токсичность объектов окружающей среды с помощью тест-организмов, сигнализирующих об обнаружении изменений состава среды искажением жизненно важных функций. В основе биотестирования объектов окружающей среды лежат процессы выявления токсического воздействия поллютантов на организм тест-объектов как в чистом виде, так и в составе сложных смесей. Факт комбинированного токсического воздействия на организм не позволяет дать однозначный ответ о вредном воздействии токсикантов только по данным физико-химического анализа. В связи с чем на этапе биотестирования проб обоснованно применение батареи тестов, состоящей из нескольких тест-объектов с разным уровнем организации и филогенетического развития. Однако при дальнейшей экстраполяции показателей токсичности поллютантов на организм человека возникают трудности,

обусловленные межвидовыми различиями в организации использованных тест-объектов. Следовательно, изучение закономерностей в ряду тест-объект – лабораторное животное – человек может позволить повысить достоверность экстраполяции результатов биотестирования на человека. При этом изучение таких закономерностей направлено на совершенствование научно-методического обеспечения мониторинга санитарно-гигиенического состояния объектов окружающей среды и оценку риска развития заболеваний у населения, связанных с воздействием поллютантов.

Цель исследования – изучить различные аспекты использования биотестирования для токсикологической оценки санитарно-гигиенического состояния объектов окружающей среды.

Результаты. В статье приведен обзор современных подходов к биотестированию, а также особенностей использования этого метода в рамках скрининговых токсикологических исследованиях поллютантов. Общность биохимических и морфофизиологических ответных реакций у биообъектов с разным уровнем организации позволяет рассмотреть вопрос о включении процедуры биотестирования в санитарно-гигиеническую экспресс-оценку объектов окружающей среды. Проведено обоснование алгоритма санитарно-токсикологической оценки объектов окружающей среды с использованием тест-объектов разного уровня организации.

Заключение. Внедрение в лабораторную практику санитарно-токсикологических исследований с использованием методов биотестирования на биообъектах второго порядка позволит повысить не только качество процедуры скрининговой токсикологической оценки поллютантов и, но и качество санитарно-гигиенической оценки объектов окружающей среды в целом. Исследования, направленные на изучение единства ответных реакций на токсическое воздействие поллютантов у биообъектов с разным уровнем организации, позволят повысить качество экстраполяции результатов оценки токсического воздействия поллютантов на организм человека, а также рассмотреть возможность внедрения методов биотестирования в алгоритм проведения государственной санитарно-гигиенической оценки состояния объектов окружающей среды.

Ключевые слова: биотестирование, тест-объекты, санитарно-гигиеническая оценка, объекты окружающей среды, поллютанты.

**THE USE OF BIOTESTING FOR TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF THE
SANITARY AND HYGIENIC STATE OF ENVIRONMENTAL OBJECTS**

Erdniev L.P.¹, Bonitenko E.U.², Gusev Yu.S.¹, Mikerov A.N.^{1,3},
Belyakova N.A.²

¹*Saratov Medical Research Center for Hygiene of the Federal Budgetary Institution of Science
"Federal Scientific Center for Medical and Preventive Technologies for Managing Risks to
Public Health" of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and
Human Welfare.*

410022, Saratov, Zarechnaya Str., building 1A, building 1. Russia. E-mail: mail@smncg.ru

²*Federal State Budgetary Institution "Scientific and Clinical Center of Toxicology named after
S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency"*

192019, St. Petersburg, Bekhtereva Street, d 1. Russia. E-mail: institute@toxicology.ru

³*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State Medical
University named after V.I. Razumovsky"*

410012, Saratov, Bolshaya Kazachya Str., d 112. Russia. E-mail: meduniv@sgmu.ru

Abstract.

Introduction. Biotesting is a method that allows you to establish the toxicity of environmental objects with the help of test organisms that signal the detection of changes in the composition of the environment by distortion of vital functions. The basis of biotesting of environmental objects are the processes of identifying the toxic effects of pollutants on the body of test objects both in pure form and in the composition of complex mixtures. The fact of combined toxic effects on the body does not allow to give an unambiguous answer about the harmful effects of toxicants only according to physicochemical analysis. In this connection, at the stage of biotesting of samples, it is justified to use a test battery consisting of several test objects with different levels of organization and phylogenetic development. However, with further extrapolation of the toxicity indicators of pollutants to the human body, difficulties arise due to interspecies differences in the organization of the test objects used. Consequently, the study of patterns in the series of test object – laboratory animal – a person can allow increase the reliability of extrapolation of biotesting results to humans. At the same time, the study of such patterns is aimed at improving the scientific and methodological support for monitoring the sanitary and hygienic condition of environmental objects and assessing the risk of developing diseases in the population associated with exposure to pollutants.

The purpose is to study various aspects of the use of biotesting for toxicological assessment of

the sanitary and hygienic state of environmental objects.

Проведено обоснование алгоритма санитарно-токсикологической оценки объектов окружающей среды с использованием тест-объектов разного уровня организации.

Results. The article provides an overview of modern approaches to biotesting, as well as the features of the use of this method in the framework of screening toxicological studies of pollutants. The commonality of biochemical and morphophysiological responses in biological objects with different levels of organization allows us to consider the inclusion of the biotesting procedure in the sanitary and hygienic express assessment of environmental objects. The substantiation of the algorithm of sanitary and toxicological assessment of environmental objects using test objects of different levels of organization is carried out.

Conclusion. The introduction into laboratory practice of sanitary and toxicological studies using methods of biotesting at second-order biological facilities will improve not only the quality of the procedure for screening toxicological assessment of pollutants and, but also the quality of sanitary and hygienic assessment of environmental objects as a whole. Studies aimed at studying the unity of responses to the toxic effects of pollutants in biological objects with different levels of organization will improve the quality of extrapolation of the results of assessing the toxic effects of pollutants on the human body, as well as to consider the possibility of introducing biotesting methods into the algorithm for conducting a state sanitary and hygienic assessment of the state of environmental objects.

Keywords: biotesting, test objects, sanitary and hygienic assessment, environmental objects, pollutants

Введение

Биотестирование является методом, позволяющим устанавливать токсичность объектов окружающей среды с помощью тест-организмов, сигнализирующих об обнаружении изменений состава среды искажением жизненно важных функций.

Первые методики биотестирования были аттестованы и внесены в федеральный реестр методик выполнения измерений Российской Федерации в конце 90-х гг. прошлого столетия [1]. На сегодняшний день биотестирование стало важной частью лабораторных исследований при санитарно-гигиенической оценке состояния объектов окружающей среды.

При биотестировании используются тест-объекты, полученные в лабораторных условиях и чувствительные к воздействию поллютантов. Развитие методологии биотестирования дало начало исследованиям, направленным на расширение видового ряда тест-объектов и разработке критериев для повышения достоверности результатов оценки токсического воздействия. Совокупность достижений позволило обосновать параметры биологического моделирования приемлемые для оценки санитарно-гигиенического состояния объектов окружающей среды. Биологическое моделирование включает использование методов самых разных областей знания: биологии, медицины, физики, химии, математики и т.д. В основе биомоделирования лежит триада «предмет – свойство – отношение», составляющая целевое назначение модели [2]. Таким образом, под биомоделью понимается такая мысленно представляемая или материально реализованная система жизнедеятельности исследуемых животных, которая, отображая или воспроизводя объект исследования, способна замещать его так, что её изучение даёт новую информацию о человеке и для человека [3–5]. В зависимости от преследуемой экспериментатором цели модели могут быть объяснительными, исследовательскими и прогностическими. Объяснительные модели используются для понимания сложной биологической проблемы. Исследовательские модели предназначены для определения биологического механизма как фундаментального, так и частного. В то время как прогностические модели предназначены для обнаружения и количественной оценки воздействия [6]. Как было отмечено, в основе биотестирования объектов окружающей среды лежат процессы выявления токсического воздействия поллютантов на организм тест-объектов как в чистом виде, так и в составе исследуемых проб. Как правило, в пробах поллютанты представлены сложными смесями в различных концентрационных комбинациях. В связи с этим факт комбинированного токсического воздействия на организм не позволяет дать однозначный ответ о вредном воздействии токсикантов только по данным физико-химического анализа.

В связи, с чем на этапе биотестирования проб обоснованно применение батареи

тестов, состоящей из нескольких тест-объектов с разным уровнем организации и филогенетического развития [7]. Однако при дальнейшей экстраполяции показателей токсичности поллютантов на организм человека возникают трудности, обусловленные межвидовыми различиями в организации использованных тест-объектов. Следовательно, изучение закономерностей в ряду тест-объект – лабораторное животное – человек может позволить повысить достоверность экстраполяции результатов биотестирования на человека. При этом изучение таких закономерностей направлено на совершенствование научно-методического обеспечения мониторинга санитарно-гигиенического состояния объектов окружающей среды и оценку риска развития заболеваний у населения, связанных с воздействием поллютантов. Все выше сказанное позволяет сформулировать цель исследования.

Целью исследования является изучение различных аспектов использования биотестирования для токсикологической оценки санитарно-гигиенического состояния объектов окружающей среды.

Как свидетельствуют данные литературы для получения коррелирующего межвидового токсикологического показателя действия поллютанта необходимо определить его значение на нескольких видах биообъектов с разной степенью организации [7].

В связи, с чем на этапе выбора и обоснования линейки тест-систем необходимо обобщить существующие методы используемые для токсикологических исследований методом биотестирования (таблица 1).

Анализ существующих методов биотестирования показал, что используемые тест-функции для тест-объектов также, как и ответные реакции у модельных биообъектов при воздействии поллютанта характеризуются выживаемостью в экспериментальной группе или критериально обусловленным эффектом. В этом случае регистрация токсикологического показателя, характеризующего смертностью в группе, не вызывает сложностей у исследователя. В то время как трактовка критериально обоснованных показателей затруднена в тех случаях, когда исследователю приходится опираться на субъективную оценку результата. Кроме того обоснованность критериев в ряде методик также имеет дискуссионный характер. Именно поэтому вариабельность токсикологических показателей для одного и того же поллютанта, полученных разными исследователями, минимальна при оценке средних смертельных значений и значительно увеличивается при оценке эффективных доз (концентраций).

Основная проблема в методологии биотестирования – это ее реализация, а точнее экстраполяция получаемых результатов на человека. Существующие в классической

токсикологии методы экстраполяции токсикометрических показателей с биообъектов на человека в этом случае не обеспечивают надежности прогнозирования на организменном уровне.

В основе экстраполяции токсикометрических показателей между биологическими объектами лежат пять критериев подобия [12]:

- первый критерий подобия отображает пространственное сходство или общность морфофункциональных характеристик органов и систем у прототипа человека и его биологической или альтернативной модели (экстраполяция

Таблица 1.

Тест-системы и тест-функции, применяемые в методологии биотестирования при гигиенической оценке
объектов окружающей среды

Тест-объект	Тест-функция	Область применения	Разработанный методический аппарат	Доля исследований с применением тест-объекта от общего числа исследований (n=9794), %
1	2	3	4	5
Одноклеточные водоросли: Хлорелла обыкновенная (<i>Chlorella vulgaris</i>) Сценедесмус (<i>Scenedesmus quadricauda</i>) Селенаструм (<i>Selenastrum capricornutum</i>) Диатомовая водоросль (<i>Phaeodactylum tricornutum</i>)	Снижение или повышение скорости размножения; мутагенная активность; флюоресценция хлорофилла	Определение токсичности водных сред и водных вытяжек, донных отложений, твердых отходов	Методики: ПНД Ф: Т 14.1:2:3:4.10-04 Т 16.1:2:2.3:3.7-04 ГОСТ: 31960-2012 РД 64-085-89 ФР.1.39.2007.03223 Р 52.24.808-2014 Р-52.24.809-2014	26,3
Клеточный тест-объекты: Гранулированная сперма быка	Подвижность	Определение токсичности водных	Методики: ФР 1.31.2009.06301	0,9

1	2	3	4	5
<i>(Bulla spermatozoidea)</i>		сред и водных вытяжек, воздуха, полимерных и др.	МР 2.1.7.2279-07 МУ 1.1.037-95	
Простейшие: Инфузория туфелька (<i>Paramecium caudatum</i>) Инфузория стилонихии (<i>Stylonichia mytilus</i>) Инфузория тетрахимена периформис (<i>Tetrahymena pyriformis</i>)	Смертность; плодовитость; реакция хемотаксиса и фототаксиса	Определение токсичности водных сред и водных вытяжек, воздуха, кормов с/х животных, комбикормов.	Методика: ФР.1.39.2006.02506 ФР.1.39.2015.19242 ГОСТ: Р 57166-2016 31674-2012 Изобретения: патент RU2335770C2 патент RU2482478C2 патент RU2266015C2	20,1
Дафнии: Дафния magna (<i>Daphnia magna</i>); Дафния лонгиспина (<i>Daphnia longispina</i>); Цериодафнии (<i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Ceriodaphnia affinis</i>).	Смертность; плодовитость; трофическая активность; мутагенная активность	Определение токсичности	Методики: ФР.1.39.2007.03222 ФР.1.39.2007.03221 ПНД ФТ: 14.1:2:4.12-06; 16.1:2:3:3.9-06. РД 64-085-89	18,6

1	2	3	4	5
			Р-52.24.809-2014 Изобретения: патент RU 2478582 патент №2008105242 патент №1068083 (СССР) патент №1234770 (СССР)	
Артемии (<i>Artemia salina</i> L)	Смертность; плодовитость	Определение токсичности	Методика: ФР 1.39.2006.02505	
Первичнополостные черви: Коловратка (<i>Rotifera</i>) более 1500 видов, наиболее распространенная (<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas)	Трофическая активность; плодовитость	Определение токсичности	Методика: РД 52.24.662-2004	3,5
Плоские черви: Трехветвистые планарии (<i>Tricladida</i>)	Смертность; регенеративная функция; поведенческая реакция	Определение токсичности	Индивидуальные методики исследователей [8-11] Изобретения: патент RU82859U1	
Брюхоногие моллюски:	Смертность;	Определение	Методика:	9,6

1	2	3	4	5
Угнетенный прудовик (<i>Lymnea lagotis Shrank</i>); Катушка роговидная (<i>Coretus corneus</i>); Живородка речная (<i>Viviparus Viviparus L.</i>).	поведенческая реакция; изменение общебиологических и морфофизиологических показателей	токсичности	P5224.695-2007 Изобретения: патент RU2600445C1 патент SU1270699A1 патент SU1328756A1 патент SU1144203A патент А.С. СССР 381336	
Рыбы: Гуппи (<i>Poecilia reticulata</i>) Данио-рерио (<i>Danio rerio</i>) Речная и прудовая рыба разных пород	Смертность; поведенческая реакция; мутагенная активность; нарушение морфо- физиологических показателей	Определение токсичности	ГОСТ: 32294-2013 32292-2013 57163-2016 32473-2013 Р-52.24.809-2014 Изобретения: патент SU1292684 патент SU1328756A1 патент №2220415	20,8

1-го уровня);

- второй критерий подобия отражает единство или сходство метаболических, нейрорегуляторных, двигательных, эндокринных и экзокринных функций или их аналогов в альтернативных моделях (экстраполяция 2-го уровня);

- третий критерий подобия определяет единство или максимальное сходство эффектов критических систем и органов по их реагированию на выбранное или исследуемое воздействие (экстраполяция 3-го уровня);

- четвертый критерий подобия выражает сопоставимость констант или иных параметров, количественно оцениваемых и математически описываемых в системе гомогенных функций у прототипа, животного или альтернативного объекта (экстраполяция 4-го уровня);

- пятый критерий указывает на временное подобие и определяется аналогично геометрическому. Момент времени численно определяется величиной интервала между ним и другим моментом, принятым за начало отсчета. Отрезок времени, в течение которого происходит явление, состоит из бесконечного множества таких моментов – временных «точек».

В соответствии с выше перечисленными критериями подобия стандартные биомодели в виде лабораторных животных соответствуют всем необходимым требованиям и относятся к моделям первого порядка. При этом основным условием использования животных в экспериментах в соответствии со стандартом GLP («Good Laboratory Practice» Надлежащая Лабораторная Практика) являются научная методология, направленная на уменьшение количества животных, задействованных в эксперименте, что побуждает исследователей к поиску альтернативных моделей для оценки токсичности в таких отраслях как токсикология, экология и гигиена окружающей среды. Тем не менее, биомодели на основе тест-объектов, не характеризуют морфофункциональные изменения органов и систем у человека при воздействии поллютанта, а всего лишь моделируют сходство метаболических, нейрорегуляторных, двигательных, эндокринных функций клеток человеческого организма. Поэтому отношение их к биомоделям второго порядка ограничивает спектр токсикологических исследований и прогностическую точность значений токсикометрических показателей относительно человека [13, 14].

Однако простота интерпретации данных, незначительное влияние на вариабельность результатов индивидуальной чувствительности тест-объектов, экономичность методов, хорошая внутри- и межлабораторная воспроизводимость и точность методов исследований по биотестированию стимулируют ученых на разработку новых и совершенствование существующих методологий с использованием альтернативных моделей. При этом

большинство методологий ограничиваются лишь интерпретацией результатов относительно исследуемого тест-объекта по результатам изменения тест-функции, не проводя анализа аналогий полученных токсикометрических показателей относительно человека [2].

При обсуждении результатов исследований, как правило, отмечается, что полученные в ходе тестирования данные могут рассматриваться в качестве предварительных, или как индикатор токсичности поллютанта. Для экстраполяции показателей токсичности поллютанта на человека в этих случаях предлагается дальнейшее проведение токсикологической оценки на биомоделях первого порядка, при этом отсутствует предварительная экстраполяция данных на организм человека.

Причиной этому является недостаточно развитая методология переноса токсикологических показателей, полученных на альтернативных моделях (тест-объекты) относительно биомodelей первого порядка. Если в экологических исследованиях оценка опасного воздействия поллютантов на окружающую среду не требует экстраполяции показателей токсичности с тест-объектов на человека [15], то при санитарно-гигиенической оценке проб воды данная процедура является обязательной, и прогнозная модель должна обладать достаточной степенью надежности [16]. Для этого алгоритм исследований должен включать не только выбор и обоснование тест-объекта, на котором возможно оценить механизм токсического воздействия поллютанта, но и этап подтверждения адекватности прогнозной модели хотя бы на одном биообъекте первого порядка.

Как показал анализ методов, наибольший исследовательский интерес в лабораторной практике вызывают одноклеточные водоросли, простейшие (инфузории) и ракообразные (дафнии) на долю которых приходится до 65 % всех исследований по биотестированию. Это связано в первую очередь с тем, что для этих биообъектов уже разработан методический аппарат. При этом среди биомodelей первого порядка наибольшую популярность завоевали представители отряда грызунов (лабораторные мыши и крысы). Это подтверждается анализом научных публикаций относительно конкретных представителей видового ряда «крыса–обезьяна» (таблица 2).

Таблица 2.

Статистический анализ научных публикаций по использованию животных в лабораторной практике [по данным www.elibrary.ru по ключевым словам «животные в лабораторной практике»]

Вид лабораторного животного	Доля исследований от общего числа исследований (n=37785), %
-----------------------------	--

Крыса, мышь	54
Кролик	22
Собака	17
Обезьяна	7

Таким образом, в качестве перспективного развития направления поиска корреляционных связей токсикологических показателей между биомоделями первого и второго порядка целесообразно рассматривать виды с наибольшей статистической значимостью в общем объеме проводимых исследований. А именно, в качестве биомodelей второго порядка – одноклеточные водоросли, инфузории и дафнии; в качестве биомodelей первого порядка – крысы и мыши. В этом случае межвидовая экстраполяция полученных результатов может быть осуществлена только с использованием коэффициентов пересчета, а не прямым переносом.

Упомянув биомodelи первого и второго порядка следует отметить направление развития биомodelирования с использованием биомodelей нулевого порядка. К биомodelям «0» порядка относятся как сам прототип, так и отдельные его элементы (органы, ткани, клетки и т.д.) которые могут быть получены в процессе секции, оперативного вмешательства, от донора или выращены в пробирке и могут быть использованы в качестве биомodelей, как в нативном виде, так и после соответствующей подготовки [6, 17, 18]. Однако для санитарно-токсикологического мониторинга объектов окружающей среды методология, основанная на применении биомodelей нулевого порядка, требует времени для внедрения в практику скрининговых исследований.

На сегодняшний день установлена высокая корреляционная связь между показателями, отражающими токсикологическое действие поллютантов на организм крыс и человека, что нашло широкое применение в научно-исследовательских работах различной направленности, которые регламентируются разработанными и внедренными в практику Государственными стандартами и Руководствами [19–25]. Учитывая все выше сказанное алгоритм исследований и экстраполяции результатов биотестирования на организм человека можно представить в виде схемы, определяющей последовательность действий (рисунок 1).



Рисунок 1. Алгоритм проведения токсикологических исследований объектов окружающей среды с внедрением методологии биотестирования и последующей экстраполяцией токсикологических показателей на человека

Возможно, представленная в алгоритме точка зрения не совпадает с положениями и стереотипами классической токсикологии, основанной на принципах межвидового подобия [7, 26], но вполне соответствует современным принципам внедрения альтернативных методов в токсиколого-гигиенические исследования [28–32].

При рассмотрении возможности применения процедуры экстраполяции токсикологических показателей с тест-объектов на человека возникает необходимость проведения анализа существующих методов прогнозирования биологических эффектов и целесообразности их использования в этом направлении.

Существующие и условно разделенные методы межвидовой экстраполяции токсикологических показателей на методы прямого переноса (эмпирические) и статистические (биометрические) позволяют осуществлять прогнозирование с высокой степенью надежности [33].

Прямой перенос с лабораторных животных является наиболее распространенным методом прогнозирования токсикометрических показателей у человека. Он может осуществляться как с одного модельного вида, так и по величине среднего значения, полученного на 3–4 видах животных. В отдельных случаях за прогнозное значение принимается показатель токсичности, полученный на наиболее чувствительном виде лабораторного животного с применением коэффициента запаса от 3 до 10. Рассмотренный

метод прогноза за счет прямого переноса является адекватным и хорошо зарекомендовал себя в отношении поллютантов, обладающих межвидовой изотоксичностью (т.е. для веществ межвидовая вариабельность показателей токсичности, которых не превышает 10 раз). В основе этого метода заложен первый критерий подобия, который отображает пространственное сходство или общность морфофункциональных характеристик органов и систем с прототипом (человеком). В связи с этим, прямой перенос не может быть рассмотрен для экстраполирования токсикометрических показателей с тест-объектов на лабораторных животных и человека.

Именно на этом несоответствии и основана позиция некорректности применения тест-объектов в токсикологических исследованиях поллютантов с последующим прогнозом токсичности на человека. Как известно, в некоторых случаях тест-объекты могут проявлять специфическую чувствительность к отдельным группам веществ, варьирующую до 10 000 раз, результатом которой является заведомая недооценка либо переоценка потенциальной опасности и, соответственно, риска для здоровья населения.

Например, широко используемые в биотестировании дафнии гибнут при воздействии 0,023 ПДК – гидрохинона, 0,08 ПДК – резорцина, 0,2 ПДК – ДДТ в воде. При этом дафния устойчива к воздействию до 131 000 ПДК – дихлорэтилена, 13 500 ПДК – дихлорэтана, 18 800 ПДК – гептилового спирта, 20 000 ПДК – таллия, а тетрахимены не реагируют на дихлорэтан и свинец в концентрациях от 90 000 до 67 ПДК соответственно [33, 34].

Несмотря на противоречия, в последнее время отмечается тенденция к увеличению количества исследований с целью обоснования методов экстраполяции, основанных на втором критерии подобия, подразумевающим сходство метаболических, нейрорегуляторных, биохимических показателей у альтернативных моделей и человека. [34–42].

Приоритетными являются исследования, базирующиеся на единстве биохимических реакций, протекающих в клетках тест-объектов и человека. При этом оценивается воздействие поллютантов на клеточные ферментные системы тест-объекта, а результаты экстраполируются на аналогичные системы человека с последующим прогнозированием токсичности изучаемого ксенобиотика в сравнении с аналогичными веществами с уже известной токсичностью. Систематизация сведений, отражающих зависимость показателей токсичности от структурной формулы поллютанта, повышает достоверность прогноза токсикометрических показателей вновь выявленных загрязняющих веществ на организм человека по результатам биотестирования с применением статистического анализа [43–45].

Так, наиболее изученными являются закономерности процесса ингибирования

ферментов холинэстеразной группы у тест-объектов, лабораторных животных и человека, что позволяет выявить статистические зависимости между воздействующими концентрациями и дозами антихолинэстеразных поллютантов. Сохраняющийся интерес исследователей в области оценки антихолинэстеразных эффектов у тест-объектов при проведении биотестирования позволяют утверждать о постоянном совершенствовании методологии токсикологической оценки этой группы веществ.

Как правило, у тест-объектов в качестве критериев оценки токсического эффекта исследуются показатели активности фермента холинэстеразы, а также их двигательная активность. Для человека критериальная оценка тяжести поражения обоснована показателем активности холинэстеразы и клинической картиной поражения антихолинэстеражными средствами. Наблюдаемая общность ответной реакции со стороны ферментной системы позволяет применить предлагаемый нами алгоритм исследований и разработать методы экстраполяции показателей токсичности на человека по результатам биотестирования. При этом в качестве тест-объектов наиболее предпочтительными являются ракообразные, моллюски и рыбы. Практическую значимость алгоритм исследований и экстраполяции приобретает в токсикологической оценке новых пестицидов, которые могут выступать в роли поллютантов водоисточников и представлять риск здоровью населения.

Активность аденилатциклазной системы так же может использоваться как общий критерий токсического воздействия поллютантов на организм тест-объектов и человека. Так, у инфузорий отмечен дозозависимый характер эффекта стимуляции активности аденилатциклазы при воздействии биогенных аминов (адреналина, серотонина), пептидного гормона (глюкагона) и гуаниновых нуклеотидов. Данные исследования указывают на сходство структурно-функциональной организации аденилатциклазной системы инфузорий и человека [46, 47]. Выявленные закономерности позволяют внедрить в практику предлагаемый алгоритм токсикологической оценки биогенных поллютантов (гормонов), оказывающих воздействие на активность аденилатциклазной системы у тест-объектов с последующей экстраполяцией результатов на человека, а также проводить индикацию указанных поллютантов в водной среде.

Другой ответной реакцией, обладающей общностью проявлений токсического воздействия химических соединений на организм человека и тест-объектов, является окислительный стресс, проявляющийся резким усилением окислительных процессов в результате недостаточного функционирования антиоксидантной системы. В основе комплекса ответных реакций организма, имеющих защитный характер и обеспечивающих адаптацию к воздействию токсических агентов, у тест-объектов, животных и человека

лежат единые фундаментальные механизмы. В подтверждение общности процессов говорят результаты исследований в опытах на крысах, где аскорбиновая кислота и нейротропный препарат пирацетам оказывали протекторное антиоксидантное действие при формировании условных реакций на токсическое действие солей тяжёлых металлов (Co, Pb и Cd) и [48–50]. Аналогичные результаты были получены другим коллективом авторов в токсикологическом эксперименте с использованием инфузорий. В результате проведенного исследования препараты аскорбиновой кислоты и пирацетам оказались эффективными протекторами, предотвращающими развитие окислительного стресса у одноклеточных организмов, возникшего под воздействием солей тяжёлых металлов и перекиси водорода [51]. Актуальность изучения данного вопроса неуклонно возрастает в связи с получением убедительных данных о роли активных форм кислорода не только в поддержании гомеостаза при возникновении различного рода интоксикациях, но и в формировании патологических процессов у человека, как на клеточном, так и на организменном уровнях. Нарастающий интерес исследователей к этому вопросу подтверждается увеличением количества публикаций в период с 1995 года по 2020 год более чем в 7 раз [52]. Таким образом, тест-объекты могут служить перспективной и удобной моделью для изучения различных эффектов воздействия химических веществ, механизм действия которых связан с индукцией окислительного стресса, при этом полученные результаты могут быть в последующем корректно экстраполированы на человека [53–55].

Рассмотренные единства ответных реакций тест-объектов, лабораторных животных и человека на воздействие ряда поллютантов позволяют сформулировать последовательность действий для проведения токсикологических исследований в виде алгоритма, основанного на методологии биотестирования и статистического анализа.

Перед началом проведения исследований необходимо определиться в направленности механизма токсического действия поллютанта относительно человека для выбора наиболее чувствительного тест-объекта, обладающего общим набором модельных систем с лабораторными животными и человеком. При этом корректный выбор критериев оценки токсического воздействия позволит получить результаты сопоставимые с человеческими.

Разработка прогнозной модели может быть основана на использовании современных информационных технологий, в частности прогнозирующих, и экспертных систем с применением различных методов интеллектуального анализа данных. Одним из таких методов является логико-комбинаторный метод, основанный на автоматизированном поиске подструктур молекул, отвечающих за наличие эффекта или принадлежность соединения к определенному классу опасности по этому эффекту. Именно необходимость

понимания механизма токсического действия на молекулярном уровне для построения соотношений структура – токсичность – разделяется в настоящее время большинством исследователей [56–59].

Для подтверждения адекватности прогнозной модели по экстраполяции результатов биотестирования необходимо провести промежуточное подтверждение прогнозных значений на крысах. При подтверждении адекватности прогнозной модели проводится экстраполяция токсикологических показателей на человека и рассчитываются риски для населения при воздействии поллютантов объектов окружающей среды с установленным уровнем загрязнения.

Заключение

Широкое внедрение в лабораторную практику санитарно-токсикологических исследований с использованием методов биотестирования на биообъектах второго порядка позволит повысить не только качество процедуры скрининговой токсикологической оценки поллютантов и, но и качество санитарно-гигиенической оценки объектов окружающей среды в целом.

Исследования, направленные на изучение единства ответных реакций на токсическое воздействие поллютантов у биообъектов с разным уровнем организации, позволят повысить качество экстраполяции результатов оценки токсического воздействия поллютантов на организм человека, а также рассмотреть возможность внедрения методов биотестирования в алгоритм проведения государственной санитарно-гигиенической оценки состояния объектов окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Олькова А.С. Биотестирование в научно-исследовательской и природоохранной практике России. *Успехи современной биологии*. – 2014. – Т. 134. – № 6. – С. 614–622.
2. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. – М.: Изд-во ВПК, 2005. – 608 с.
3. Каркищенко Н.Н. Экстраполяция экспериментальных данных на методику испытания лекарственных средств в клинике. *Фармакология и токсикология*. – 1982. – Т.3. – С.22.
4. Wu G.D., Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., Che Y.Y. et al. An individual bioequivalence criterion: regulatory consideration // *Stat. Med.* – 2000. – Vol.19, №20. – P.2821–2842.
5. Jelliffe R., Schumitzky A., Van Guilder M. Population pharmacokinetic. Pharmacodynamic modeling: parametric and nonparametric methods. *Therap. Drug. Monit.* – 2000. – Vol.22, №3. – P. 354–365.

6. Бонитенко Е.Ю., Кашуро В.А., Башарин В.А. Вопросы моделирования в экспериментальной токсикологии и медицине. Биомодели нулевого порядка. *Мед. труда и пром. экол.* – 2022. – Т.62, №11. – С. 718–732.
7. Гусев Ю.С., Иванов Д.Е., Эрдниев Л.П. и др. Биотестирование для объективизации гигиенической оценки поверхностных и подземных источников водоснабжения. *Гигиена и санитария.* – 2022. – Т.101, №12. – С. 1450–1457.
8. Измайлова Н.Л., Ляшенко О.А., Антонов И.В. Биотестирование и биоиндикация состояния водных объектов: учебно-методическое пособие к лабораторным работам по прохождению учебной (ознакомительной) практики. – СПб.: СПбГТУРП, 2014. – 52 с.
9. Елисеева Л.Г. Юрина О.В., Улаханова Д.П., Алексеева А.О. Анализ методов биотестирования общей токсичности и безопасности пищевых продуктов. – М.: Изд-во "Палеотип", 2014. – 76 с.
10. Нерсисян А.А., Верушкина Г.Н. Оценка биологического действия хлорида цинка и сульфата меди на изменение скорости регенерации у планарий методом прижизненной компьютерной морфометрии // Техногенные системы и экологический риск: Тез. докл. II Международной научной конференции, Обнинск, 19–20 апреля 2018 года / под общей редакцией А.А. Удаловой. – Обнинск: Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ". – 2018. – С. 419–420.
11. Елисеева Л.Г., Махотина И.А., Юрина О.В., Горожанин П.П. Опыт применения биотеста на планариях для исследования безопасности питьевой бутилированной воды. *Товаровед продовольственных товаров.* – 2015. – № 5-6. – С. 46–52.
12. Каркищенко Н.Н. Через критерии подобия и аллометрии к валидации и экстраполяции в биомедицине. *Биомедицина.* – 2007. – № 1. – С. 5–28.
13. Каркищенко Н.Н. От моделей на животных к альтернативным моделям в токсикологии. *Токсикологический вестник.* – 2010. – Т.102, № 3. – С. 18–20.
14. Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии: Тезисы докладов Российской научной конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 19–20 мая 2011 года. – СПб.: ООО "Издательство Фолиант", 2011. – 312 с.
15. Приказ Минприроды России №536 от 04.12.2014 г. «Критерии отнесения отходов к I-V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду».
16. Рекомендация коллегии Евразийской экономической комиссии №4 от 26.02.2020 г. «О методических указаниях по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевой продукции по критериям риска для здоровья человека».

17. Горбачева Т.В., Бонитенко Е.Ю., Башарин В.А., Бонитенко К.Е. Влияние ингибиторов алкогольдегидрогеназы на биотрансформацию этиленгликоля и его эфиров в гомогенатах печени. *Медлайн.ру. (Medline.ru)*. – 2018. – Т.19. – С. 1217–1228.
18. Васильев Г.С. Человеческий материал как объект права. *Правоведение*. – 2018. – Т.337, №2. – С.357–358.
19. ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности» – М.: Стандартинформ, 2019. – 11 с.
20. ГОСТ 32637-2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Повторное исследование пероральной токсичности на грызунах: 90-дневное» – М.: Стандартинформ, 2020. – 16 с.
21. ГОСТ 32646-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая ингаляционная токсичность – метод определения класса острой токсичности» – М.: Стандартинформ, 2019. – 22 с.
22. ГОСТ 32373-2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при накожном поступлении» – М.: Стандартинформ, 2020. – 13 с.
23. ГОСТ 57933-2017 «Нанотехнологии. Наноматериалы. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности. Общие требования к проведению испытаний на лабораторных животных» – М.: Стандартинформ, 2017. – 14 с.
24. ГОСТ 34660-2020 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Микроядерный анализ на эритроцитах млекопитающих» – М.: Стандартинформ, 2020. – 22 с.
25. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека: Руководство. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. – 639 с.
26. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности по ГОСТ 12.1.007-76. *Заготовительные производства в машиностроении*. – 2007. – №11. – С. 55.
27. McDonald S.F., Hamilton S.J., Buhl K.J., Heisinger J.F. Acute toxicity of fire control chemicals to *Daphnia magna* (Straus) and *Selenastrum capricornutum* (Printz) // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. – 1996. – Vol.33, №1. – P. 62–72.
28. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в системе оценки и контроля источников токсического загрязнения водной среды: по специальности – 14.00.20. автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Купавна, 1991. – 39 с.
29. Bradley B.P., Shrader E.A., Kimmel D.G., Meiller J.C. Protein expression signatures:

An application of proteomics // *Mar. Environ. Res.* – 2002. – Vol.54, № 3-5, – P. 373–377.

30. Долго-Сабунов В.Б. К сравнительной оценке токсичности ксенобиотиков. *Токсикол. вестн.* – 2008. – №1. – С. 34–36.

31. Каркищенко Н.Н. Метаморфозы подобию, альтернативные модели и валидация. *Альтернативы биомедицины.* – М.: Межакадемическое издательство ВПК, 2007. – С. 218–246.

32. Дудчик Н.В., Дроздова Е.В., Сычик С.И. Альтернативные биологические тест-модели в оценке риска воздействия факторов среды обитания / Научно-практический центр гигиены.: Республиканское унитарное предприятие "Белорусский научно-исследовательский институт транспорта "Транстехника". – Минск, 2015. – 196 с.

33. Долгов В.А., Лавина С.А., Никитченко Д.В. Оценка и взаимосвязь параметров токсичности различных веществ для инфузорий тетрахимена пириформис и белых крыс. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство.* – 2014. – № 2. – С. 58–65.

34. Гильдеева Г.Н. Актуальные проблемы доклинических исследований: переход к альтернативной in vitro-токсикологии. *Вестник Росздравнадзора.* – 2015. – № 5. – С. 59–62.

35. Соболев В.Е. Альтернативные животные модели в токсикологических исследованиях // Медико-биологические аспекты химической безопасности: Сборник трудов III всероссийской научной конференции молодых ученых, Санкт-Петербург, 05–07 сентября 2018 года / Под общей редакцией А.С. Радилова, В.Р. Рембовского. – Санкт-Петербург: Федеральное государственное унитарное предприятие "Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека" Федерального медико-биологического агентства, 2018. – С. 76.

36. Дроздова Е.В., Дудчик Н.В., Сычик С.И., Шевляков В.В. Оценка интегральной токсичности факторов и объектов среды обитания с использованием альтернативных биологических тест-моделей: методология и технологии /; Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены». – Минск : Республиканское унитарное предприятие "Белорусский научно-исследовательский институт транспорта "Транстехника", 2017. – 216 с.

37. Лебедева А.М., Гиндюк Н.Т., Михнович Э.М. Новые парадигмы оценки токсичности химических веществ. *Здоровье и окружающая среда.* – 2015. – № 25-2. – С. 116–119.

38. Богачева А.С., Полозова Е.В., Старков А.В., Симоненко С.Г. Оценка эффективности современных альтернативных методов в токсиколого-гигиенических исследованиях. *Здоровье, демография, экология финно-угорских народов.* – 2018. – № 2. –

С. 81–84.

39. Журихина Л.Н., Осипова Т.С., Бондарук А.М., Свинтилова Т.Н. Оценка безвредности специализированного пищевого продукта для питания спортсменов на *Tetrahymena pyriformis* // Сахаровские чтения 2019 года: экологические проблемы XXI века : материалы 19-й международной научной конференции. В трех частях, Минск, 23–24 мая 2019 года / Под общей редакцией: С.А. Маскевича, С.С. Позняка. Том Часть 1. – Минск: Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь, 2019. – С. 219–222.

40. Долгов В.А., Лавина С.А., Семенова Е.А. и др. Метод биологической оценки меда как альтернативный критерий его качества и безопасности. *Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. – 2017. – Т.23, №3. – С. 30–34.

41. Олькова А.С. Условия культивирования и многообразие тест-функций *Daphnia magna* Straus при биотестировании. *Вода и экология: проблемы и решения*. – 2017. – Т.69, №1. – С. 63–82.

42. Олькова А.С., Товстик Е.В. Тенденции параллельного развития методов биоиндикации и биотестирования // Модернизация науки и образования: современные реалии, пути совершенствования: Материалы XXXIV Всероссийской Научно-Практической Конференции, Ростов-на-Дону, 15 июля 2021 года. – Ростов-на-Дону: ООО "Издательство ВВМ", 2021. – С. 35–37.

43. Березинский Л.А. Экотоксикологическая характеристика нового класса ингибиторов холинэстераз тетраалкиламмониевых производных урацила на батареях биотестов: специальность – 03.00.16. автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2000. – 23 с.

44. Аслямова А.А. Экотоксикологическая характеристика безопасности некоторых производных урацила в отношении млекопитающих и гидробионтов: специальность – 03.00.16: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2006. – 19 с.

45. Разработка стратегии биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов: специальность – 03.02.08: диссертация. доктора биол. наук. – Киров, 2020. – 359 с.

46. Деркач К.В. Структурно-функциональная организация аденилатцикلاзной сигнальной системы инфузорий *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis*: специальность – 03.00.04: диссертация канд. биол. наук. – Санкт-Петербург, 2003. – 133 с.

47. Шпаков А.О. Молекулярные механизмы сопряжения гормональных рецепторов с G-белками в аденилатциклазной сигнальной системе позвоночных и беспозвоночных: специальность – 03.00.04: автореф. дис. доктора биол. наук. – Санкт-Петербург, 2007. – 40

с.

48. Прокопьев И.А., Кан М.У. Цитотоксичность калиевых солей (+) и (-) усниновой кислоты в отношении *Paramecium caudatum*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2020. – Т.169, № 1. – С. 120–123.

49. Бокиева С.Б., Карпухина О.В., Гумаргалиева К.З., Иноземцев А.Н. Комбинированное воздействие тяжёлых металлов и пирасетама нарушает формирование адаптивных реакций. *Изв. Горск. гос. аграр. ун.* – 2012. – Т. 49, №4-4. – С. 194–200.

50. Карпухина О.В., Гумаргалиева К.З., Бокиева С.Б. и др. Аскорбиновая кислота защищает организм от токсического воздействия кадмия. В кн.: *Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине*. – СПб.: Изд-во политех. университета, 2011. – Т. 2. – С. 161–163.

51. Карпухина О.В., Карпухина О.В., Гумаргалиева К.З., Иноземцев А.Н. Исследование металл-индуцированного окислительного стресса у одноклеточных организмов. *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 11-4. – С. 671–674.

52. Моргунов И.Г., Камзолова С.В., Самойленко В.А. и др. Испытание препарата изолимонной кислоты в модели окислительного стресса, индуцированного тяжелыми металлами на инфузории *Paramecium caudatum* // V Пущинская школа-конференция "Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов": Материалы V Пущинской школы-конференции, Пущино, 03–07 декабря 2018 года. – Пущино: Издательский дом "Вода: химия и экология", 2018. – С. 119–121.

53. Зайцев В.Г., Меклеева Б.В., Островский О.В. Диэтилдитиокарбамат натрия, проникающий ингибитор супероксиддисмутазы, усиливает чувствительность инфузорий *Paramecium caudatum* к индуцированному окислительному стрессу. *Токсикологический вестник*. – 2009. – Т.95, №2. – С. 18–20.

54. Хомич Н.П., Антоняк Г.Л., Савицкая О. Н. Влияние хрома (VI) на процесс пероксидации липидов и состояние антиоксидантной системы в клетках печени, почек и легких кроликов. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького* 2015. – Т. 17, № 3(63). – С. 431–436.

55. Шарапов М.Г., Равин В.К., Новоселов В.И. Пероксиредоксины – многофункциональные ферменты // *Молекулярная биология*. – 2014. – Т.48, №4. – С. 600.

56. Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В. Комплексная система прогноза токсичности и опасности веществ, основанная на использовании соотношений структура–биотрансформация–токсичность. *Токсикологический вестник*. – 2013. – Т.122, №5. – С. 33–37.

57. Радченко Е.В., Карпов П.В., Соснин С.Б. и др. Система прогнозирования

фармакокинетических свойств и токсичности лекарственных веществ; XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: Тезисы докладов в 5 томах, Екатеринбург, 26–30 сентября 2016 года. Уральское отделение Российской академии наук. Том 4. – Екатеринбург: Уральское отделение РАН, 2016. – С. 432.

58. Гусева Е.А., Николаева Н.И., Филин А.С., Савостикова О.Н. Сравнительная оценка математических моделей прогнозирования острой токсичности химических веществ. Гигиена и санитария. – 2022. – Т.101, № 7. – С. 816–823.

59. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022683454 Российская Федерация. Опытный образец программного модуля прогнозирования биологической активности и токсичности лекарственных препаратов и биологически активных молекул: № 2022682929: заявл. 29.11.2022: опубл. 05.12.2022 / А.А. Айгинин, Ю.Д. Афанасьев, А.В. Мелерзанов; заявитель федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт».