

Research Repository UCD

Title	Assessing the State of an Organism and Toxicity of Substances Using Biochemical Indicators
Authors(s)	Rabinovich, Alexander Lyvovich, Vysotskaya, Rimma Ulianovna, Lyubartsev, Alexander, Quirke, Nick, Lobaskin, Vladimir
Publication date	2017-10-01
Publication information	Rabinovich, Alexander Lyvovich, Rimma Ulianovna Vysotskaya, Alexander Lyubartsev, Nick Quirke, and Vladimir Lobaskin. "Assessing the State of an Organism and Toxicity of Substances Using Biochemical Indicators" 9 (October 1, 2017).
Publisher	Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences
Item record/more information	http://hdl.handle.net/10197/10331
Publisher's version (DOI)	10.17076/eco634

Downloaded 2024-03-29T04:02:15Z

The UCD community has made this article openly available. Please share how this access benefits you. Your story matters! (@ucd_oa)



© Some rights reserved. For more information

ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/320073217

ASSESSING THE STATE OF AN ORGANISM AND TOXICITY OF SUBSTANCES USING BIOCHEMICAL INDICATORS

Article · September 2017

DOI: 10.17076/eco634

CITATIONS
0

READS
77

10 authors, including:



Alexander P Lyubartsev
Stockholm University
196 PUBLICATIONS **6,689** CITATIONS
SEE PROFILE



Nick Quirke
Imperial College London
178 PUBLICATIONS **8,006** CITATIONS
SEE PROFILE



Vladimir Lobaskin
University College Dublin
78 PUBLICATIONS **1,604** CITATIONS
SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Colloidal interactions View project

POLYMAT: materials for energy security View project

All content following this page was uploaded by Nick Quirke on 23 October 2017.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

Труды Карельского научного центра РАН
№ 9. 2017. С. 84–97
DOI: 10.17076/eco634

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 577.1:574.64:597.08

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА И ТОКСИЧНОСТИ ВЕЩЕСТВ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

А. Л. Рабинович[1], Р. У. Высоцкая[1], A. P. Lyubartsev[2], N. Quirke[3], V. A. Lobaskin[4]

[1] Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск
[2] Стокгольмский университет, Швеция
[3] Имперский колледж науки, технологии и медицины, Лондон, Великобритания
[4] Университетский колледж Дублина, Ирландия

Предложены критерии для количественного описания состояния и изменения состояния организма в разных условиях с использованием некоторой совокупности измеряемых биохимических показателей (признаков, свойств). Признаки различной природы и размерности, приведенные к безразмерной форме относительно своих контрольных значений, объединяются в составной индикатор, показывающий относительное изменение, усредненное по всем признакам. Использование данного составного индикатора целесообразно при сравнении результатов разных экспериментов. Если для каждого признака известен диапазон нормальной изменчивости (референтный интервал), то предложено вычислять также второй составной индикатор: усредненное по всем признакам приведенное относительное значение их отклонений от середин своих референтных интервалов, отнесенных к полуширине интервалов (в процентах). Расчет проводится таким образом, что диапазон 0–100 % этих отклонений для каждого признака соответствует референтному интервалу (где 0 отвечает середине интервала, 100 % – его нижнему или верхнему пределу), тогда как величины, превышающие 100 %, – переходу в область патологии. Усредненное по всем признакам значение приведенных относительных отклонений от середин референтных интервалов дает количественную оценку состояния организма (по данному набору признаков) по отношению к диапазону нормальной изменчивости. Использование предложенного подхода продемонстрировано на примере обработки данных одного из токсикологических экспериментов.

Ключевые слова: экологическая биохимия; токсиканты; референтные интервалы; методы описания состояния организма.

A. L. Rabinovich, R. U. Vysotskaya, A. P. Lyubartsev, N. Quirke, V. A. Lobaskin. ASSESSING THE STATE OF AN ORGANISM AND TOXICITY OF SUBSTANCES USING BIOCHEMICAL INDICATORS

Criteria for quantitatively describing the state and state variation of a living organism in various conditions are proposed using a set of its measurable characteristics (indicators,

properties). The measurable indicators (of different origin and dimensionality) of an organism converted into a dimensionless form relative to their control values are combined into a single integral indicator showing relative deviation averaged over all the indicators. This integral indicator is useful to compare the results of different experiments. If the range of normal variability (reference range) is known for each indicator involved, the second integral indicator is proposed to be calculated as the normalized relative deviation from the middle of all reference ranges (in percentage) averaged over all the indicators. The calculation is performed in such a way that the range 0–100 % of this deviation of an indicator corresponds to the normal variability (where 0 corresponds to the middle of the reference range, 100 % – to its lower or upper limit), while the values over > 100 % represent a pathological response. The normalized relative deviation from the middle of all reference ranges (in percentage) averaged over all the indicators is an assessment of the state of a living organism (based on the given set of indicators) relative to the range of normal variability. The application of the suggested approach is illustrated by an example of a toxicological experiment.

K e y w o r d s: ecological biochemistry; toxicants; reference ranges; methods of organism state description.

Введение

Проблема описания состояния разных организмов, а также оценки степени воздействия на них различных веществ и, если возможно, оценки степени токсичности последних весьма актуальна. Реакции разных животных и человека на воздействие даже одинаковых токсикантов могут различаться очень существенно; сложность проблемы возрастает с увеличением количества и разнообразия токсикантов, особенно в последние годы [Моисеенко, 2009; A textbook…, 2010; Гелашвили и др., 2016].

Очевидно, что данные, служащие основанием для оценки токсичности веществ, едва ли можно свести к единственному количественному идентификатору (параметру) или небольшому набору идентификаторов. За последнее десятилетие вопросам токсичности разных веществ было посвящено множество исследований. Некоторые эффекты токсичности на уровне отдельных клеток и тканей связаны с окислительным стрессом и возможными патофизиологическими проявлениями в виде повреждений белков, ДНК и мембран; такая парадигма токсичности считается наиболее разработанной [Nel et al., 2006]. Кроме того, в литературе обсуждаются такие эффекты взаимодействий с токсикантами, как нарушение структуры и функций митохондрий, фагоцитов, воспаление, денатурация белков, эндотелиальная дисфункция, влияние на свертываемость крови, генерирование неоантигенов, нарушение иммунной устойчивости, изменение регулирования клеточного цикла [Nel et al., 2006]. Возрастающий объем использующихся токсикантов увеличивает риск их воздействия на человека, животных и растения, может привести к негативным и долговременным последствиям для различных экосистем. Это далеко не всегда изучено должным образом. Понимание молекулярных механизмов токсичности большинства веществ пока не достигнуто, хотя наряду с экспериментальными исследованиями для анализа химических и биологических объектов и явлений и определения потенциально токсического влияния различных соединений на организм разработан и используется ряд теоретических подходов. Например, анализ распределений и тестовых данных [Péry et al., 2003; Yuan, Yin, 2009], топологические индексы [Khadikar et al., 2002], количественные связи между структурой и активностью (Quantitative Structure-Activity Relations (QSAR)) [Tantra et al., 2015], гистограммы [Fiorino et al., 2011], измерения молекулярного квантового подобия [Gironés, Carbó-Dorca, 2006] и другие методы [Nigsch et al., 2009; Valerio, 2009]. Так или иначе, оценка влияния токсикантов различной природы на состояние организма и оценка степени их токсичности является важной и нетривиальной проблемой.

Цель настоящей работы – предложить количественные критерии для описания:

а) изменения состояния организма (в том числе после возможного токсикологического воздействия) по сравнению с контролем, по результатам измерений различных его показателей, объединенных в составной индикатор;

б) состояния организма по отношению к диапазонам нормальной изменчивости (референтным интервалам) изученного набора его показателей (оценки состояния «здоровья» организма по этому набору).

Методы

Оценка текущего состояния организма

Любой организм содержит сотни тысяч разных биополимеров (белков, углеводов, липидов и т. д.) и низкомолекулярных метаболитов

и веществ, которые могут участвовать в ответе на воздействие внешних факторов. Количество токсикантов также является огромным (и каждый из них может взаимодействовать с различными мишенями в организме), поэтому для поиска мест поражения и выяснения последствий на метаболическом уровне требуется использовать большой спектр методов и параметров. Комплексное тестирование состояния любого организма требует применения морфологических, гистологических, физиологических, генетических, иммунологических, биохимических тестов. Чем более широким является набор анализируемых параметров (показателей), чем более полно они характеризуют основные пути метаболизма, тем более объективную оценку состояния организма он способен обеспечить [Разработка..., 2001; Сидоров и др., 2002; Немова, Высоцкая, 2004].

Под показателем понимается характеристика некоторого молекулярного компонента организма, например, содержание (концентрация) компонента или активность какого-нибудь фермента. Однако следует также учитывать, в каком органе или ткани изучается этот показатель, какому организму принадлежит ткань, какого возраста и пола этот организм и т. д., поскольку содержание одного и того же метаболита, активность одного и того же фермента с учетом этих факторов может иметь разные механизмы регуляции. Поэтому показатель с учетом тканевой специфичности – это самостоятельная единица, его называют признаком [Сидоров и др., 2002, 2003]. Таким образом, речь идет о необходимом охвате признаков. Признаки обычно изучаются в сравнении с их значениями в контрольном состоянии организма. Признаки для любого состояния имеют разнообразную природу, поэтому различия могут быть в происхождении и особенностях получения образцов, в методах измерения, в единицах измерения. В итоге сравнивать между собой абсолютные значения разных признаков обычно затруднительно. Но если перевести все признаки в относительные единицы, т. е. соотнести их с какими-то аналогичными величинами (что использовано, например, в работах [Сидоров и др., 2002, 2003]), то становится возможным сравнивать между собой изменения разных признаков. На основе относительных единиц можно разрабатывать способы оценки изменения всего набора признаков в целом, сравнения изменений этого набора признаков в разных экспериментах, а также сравнения с разными литературными данными.

Безразмерные относительные показатели (признаки). Пусть C_i – значение i-го признака (например, концентрации вещества или активности фермента в данной ткани) в данном опыте, и C_{i_ctrl} – значение соответствующего признака i в контроле. Тогда в качестве безразмерного относительного отклонения i-го признака от значения в контроле (в процентах) можно избрать [Сидоров и др., 2002, 2003] величину

$$\frac{100\cdot\left(C_i - C_{i_ctrl}\right)}{C_{i_ctrl}}. \qquad (1)$$

Состояние контроля обычно избирается в интервале нормальной изменчивости (референтном интервале), C_i может оказаться как больше, так и меньше, чем C_{i_ctrl}, т. е. соотношение (1) может быть положительным или отрицательным, а в контрольной точке оно равно нулю. Проблема при вычислении отклонения (1) возникает, лишь если значение C_{i_ctrl} в контроле невозможно измерить или оно настолько мало, что имеющимися приборами (или методикой) не детектируется; в итоге полагается, что $C_{i_ctrl} = 0$. Такие признаки при расчете относительных отклонений (1) следует, к сожалению, исключать из рассмотрения.

Удельное относительное отклонение совокупности признаков от контроля. Переход к безразмерным относительным отклонениям признаков позволяет далее предложить простой вариант интегральной оценки полученных данных. Назовем «экспериментом» комплекс измерений, необходимых для получения всей совокупности различных признаков. Пусть в данном эксперименте исследовано N признаков. Предлагается вычислять удельное относительное отклонение Ω этой совокупности признаков как среднее арифметическое модулей относительных отклонений от своих контрольных значений в процентах, каждое из которых вычислено согласно соотношению (1), т. е.

$$\Omega = \frac{100}{N}\cdot\sum_{i=1}^{N}\left|\frac{C_i - C_{i_ctrl}}{C_{i_ctrl}}\right|. \qquad (2)$$

Модули в слагаемых выражения (2), строго говоря, играют роль только для признаков с отрицательными отклонениями от контроля, а проставлены они у всех слагаемых лишь для единообразия. В состоянии контроля величина $\Omega = 0$. Никаких специальных коэффициентов для разных признаков выражение (2) не содержит: слагаемые для разных признаков учитываются равнозначно. Подразумевается, что все признаки являются независимыми (нескоррелированными). Строгой независимости обычно нет, поскольку биохимические процессы во всех органах и тканях организма, разумеется, всегда некоторым образом связаны друг с другом. Однако признаки будем называть

скоррелированными лишь в том случае, когда они взаимосвязаны жестко, взаимозависимы так, что данных об изменении одного признака достаточно, чтобы воспроизвести данные по изменению другого. Эта скоррелированность может являться, например, следствием того, что оба признака напрямую зависят от одного и того же третьего признака, который явно в анализе не фигурирует. Если такая скоррелированность будет выявлена, то во избежание искажения результатов расчета один из жестко взаимозависимых признаков должен быть из соотношения (2) исключен. Как уже упоминалось, для получения объективной оценки состояния организма используемые признаки должны как можно более полно характеризовать основные пути метаболизма. Можно ожидать, что в этом случае связь между разными признаками будет являться весьма опосредованной, сложной, непрямой.

В соотношении (2) также подразумевается, что все признаки являются одинаково важными и что отклонения любого признака от своего контроля в сторону увеличения и уменьшения играют тоже одинаково важную роль. В общем случае для разных признаков что-то может оказаться неверным, и тогда для внесения поправок в формулу (2) и получения более реалистичной оценки требуются специальные исследования. Если в итоге подобных исследований удалось, например, количественно установить разницу в степени важности (значимости) каждого из используемых признаков при воздействии данного токсиканта (т. е. установить коэффициент f_i, являющийся «весом» i-го признака), то каждое слагаемое в выражении (2) следует умножить на соответствующий коэффициент f_i, а вместо N в (2) использовать сумму всех коэффициентов f_i. Поиск путей оценки весов признаков (коэффициентов f_i) выходит за рамки настоящей работы, тем более что универсальные способы вряд ли существуют: в огромном многообразии признаков может быть огромное многообразие разных взаимосвязей, и определение весов признаков в каждом конкретном случае – это специальная задача. Вместе с тем представляется уместным привести пример эффективности такого приема в случае успешности оценок весов: для комплексной оценки опасности и токсичности сточных вод как многокомпонентных систем в работе [Гелашвили и др., 2010] были предложены алгоритмы применения обобщенной функции желательности и введены весовые коэффициенты. В качестве этих коэффициентов были использованы обратные значения классов опасности токсикантов, что позволило повысить степени дискриминации сравниваемых проб сточных вод как по их химическому составу, так и по токсическим свойствам [Гелашвили и др., 2010].

Далее, если в итоге специальных исследований удалось установить, что отклонения какого-то признака от контроля в сторону увеличения и уменьшения неравноценны по степени важности для организма, то в выражении (2) у слагаемого, относящегося к этому признаку, нужно ввести разные множители-«веса» для положительного и отрицательного отклонения, чтобы уравнять оба вклада.

Таким образом, величина Ω (выражение (2)) дает количественную оценку степени смещения состояния организма (усредненного по избранному набору признаков) в данном эксперименте от контроля. Ее можно использовать для ряда сравнительных оценок: если проведено несколько разных экспериментов с данным организмом и исследован один и тот же набор признаков (с одним и тем же контрольным состоянием), то сравнение значений Ω для них позволит провести сортировку экспериментов по степени изменения в них состояния организма по сравнению с контролем.

Отметим, однако, что шкала изменений величины Ω оказывается в известном смысле произвольной, что ограничивает возможности рассмотрения других вопросов. Наиболее значимое ограничение состоит в том, что численное значение величины Ω в любом эксперименте не позволяет установить, принадлежит или нет данное состояние организма интервалу нормальной изменчивости. Вопрос этот является весьма важным, а в отдельных случаях – принципиальным. Искомую оценку можно сделать на основании величины, которая предложена в следующем разделе.

Оценка состояния организма по отношению к диапазону нормальной изменчивости

Рассмотрим вопрос о расчете характеристики, которая позволит оценить состояние организма, достигнутое в данном эксперименте, по совокупности изученных признаков (вне зависимости от их начальных состояний в контрольных точках), относительно диапазона нормальной изменчивости. Это позволит обсуждать состояние в терминах н о р м ы и/или п а т о л о г и и , т. е. оценить «степень здоровья» организма по указанному набору признаков. Эта характеристика должна отражать риск возникновения у организма патологического состояния и/или риск его наличия. Для решения этого вопроса разумно использовать принцип

референтных интервалов [CLSI..., 2000; Henny et al., 2000; Jones, Barker, 2008].

Приведенное относительное отклонение совокупности признаков от середины референтных интервалов. Пусть известны интервалы нормальной изменчивости (референтные интервалы) всех признаков организма, изученных в данном эксперименте; количество признаков равно *N*. Интервалы эти могут быть установлены в лабораторных экспериментах или заимствованы из литературных источников. Для любого признака референтный интервал измеряется в абсолютных единицах (и единицы измерения разных признаков могут различаться). Пусть для *i*-го признака нижний предел референтного интервала в абсолютных единицах есть C_{i_lower}, а верхний предел – C_{i_upper}. Остальные обозначения сохраняются: значение *i*-го признака в эксперименте есть C_i, а в контрольной точке C_{i_ctrl}.

В данном разделе также используем соизмерение величин всех признаков, т. е. переход к некоторым относительным их величинам, но это не будет связано с выражением (1). А именно рассчитаем положение какого-то одного признака C_i по отношению к пределу (границе) его референтного интервала. Очевидно, что роль в оценке состояния играет лишь расстояние от величины C_i до того предела, который оказался к этой величине C_i ближе, независимо от того, нижний он или верхний. Универсальным началом отсчета этого расстояния по направлению к обоим пределам может быть только середина референтного интервала, это точка $(½) \cdot (C_{i_lower} + C_{i_upper})$.

Половина ширины референтного интервала, очевидно, равна величине $(½) \cdot (C_{i_upper} - C_{i_lower})$. Вычислим следующее отношение:

$$100 \cdot \frac{\left| C_i - (½) \cdot (C_{i_upper} + C_{i_lower}) \right|}{(½) \cdot (C_{i_upper} - C_{i_lower})}. \qquad (3)$$

Отношение (3) показывает, какую долю (в процентах) от полуширины референтного интервала составляет расстояние от середины этого референтного интервала до точки C_i. Знак модуля поставлен в (3) для того, чтобы разность в числителе дроби была всегда положительной величиной, поскольку знак этой разности не является существенным. Это выражение и дает количественную оценку состояния признака C_i (или состояния организма по этому признаку C_i) на шкале «норма – патология». При этом области нормальной изменчивости отвечает диапазон от 0 до 100 %: 0 соответствует середине референтного интервала, а 100 % – любому из его пределов.

Вычислим теперь величину Ω^{norm}, которая описывает состояние организма на шкале «норма – патология» как среднее арифметическое величин (3) по всей совокупности *N* изученных признаков:

$$\Omega^{norm} = \frac{100}{N} \cdot \sum_{i=1}^{N} \left(\frac{\left| C_i - (½) \cdot (C_{i_upper} + C_{i_lower}) \right|}{(½) \cdot (C_{i_upper} - C_{i_lower})} \right). \qquad (4)$$

Величину Ω^{norm} назовем ***нормализованное (приведенное)*** *удельное относительное* отклонение признаков от середины референтных интервалов. Каждое слагаемое в выражении (4) представляет собой отношение (в процентах) величины отклонения данного признака *i* в эксперименте в какую-либо сторону от середины своего референтного интервала к полуширине этого референтного интервала. В относительных единицах на шкале «норма – патология» все признаки оказались теперь строго соизмеримыми, поскольку выражение (3) для каждого признака достигает значения 100 % при пересечении нижнего или верхнего предела его референтного интервала; отсчет ведется от середины интервала. В итоге приведенное удельное относительное отклонение Ω^{norm} описывает состояние «здоровья» организма, усредненное по набору из *N* признаков. Итак, критерием оценки «здоровья» является положение Ω^{norm} относительно границы 100 %; эта граница на данной шкале для организма в целом отвечает и нижнему, и верхнему пределу диапазона нормальной изменчивости. Если $0 \leqslant \Omega^{norm} \leqslant 100$ %, то чем больше величина Ω^{norm}, тем больше риск возникновения токсических эффектов в здоровом организме. Если Ω^{norm} оказалось больше 100 %, то появляется риск наличия токсического эффекта и состояния «болезни» («нездоровья») организма, и этот риск увеличивается с увеличением Ω^{norm}. При этом нужно иметь в виду, что вблизи общей границы диапазона нормальной изменчивости (пороговой величины 100 %) возможно взаимное перекрывание нормальных и патологических состояний. Это утверждение строго согласуется со смыслом референтных интервалов [CLSI..., 2000; Henny et al., 2000; Jones, Barker, 2008]. Очевидно, что если величина Ω^{norm} в каком-то эксперименте будет превышать эти 100 % значительно, то можно будет утверждать, что риск (вероятность) существования патологического состояния (т. е. наличия токсического эффекта) действительно высок. Отметим, что признаки должны отвечать тем критериям, которые были упомянуты выше при обсуждении выражения (2); некоторые связанные с этим вопросы обсуждаются также в пп. 1–5 ниже.

В ряде случаев исследователю может оказаться необходимым также оценить, каким по шкале «норма – патология» являлось то состояние организма, которое было избрано им в качестве «контрольного» (и все признаки отвечали своим контрольным точкам). Для этого в выражение (4) для Ω^{norm} следует вместо C_i подставить значения C_{i_ctrl}:

$$(\Omega^{norm})_{ctrl} = \frac{100}{N} \cdot \sum_{i=1}^{N} \frac{\left| C_{i_ctrl} - (1/2)\left(C_{i_upper} + C_{i_lower}\right) \right|}{(1/2)\left(C_{i_upper} - C_{i_lower}\right)}. \qquad (5)$$

При необходимости можно вычислить и разность $\Omega^{norm} - (\Omega^{norm})_{ctrl}$ между состоянием организма Ω^{norm} в эксперименте (согласно соотношению (4)) и его состоянием $(\Omega^{norm})_{ctrl}$ в контроле (согласно (5)) по шкале «норма – патология». Важно, однако, иметь в виду, что величина этого смещения по шкале «норма – патология», т. е. $\Omega^{norm} - (\Omega^{norm})_{ctrl}$, менее информативна, чем собственно абсолютная величина Ω^{norm} на этой шкале. В этом проявляется существенное отличие величины Ω^{norm} из (4) от использованной ранее величины Ω из (2); его здесь уместно подчеркнуть. Конкретное значение величины Ω из (2) показывает только разницу: с м е щ е н и е данного состояния организма от контрольного, и численные значения на этой шкале смещений существенно зависят от выбора контроля. Напротив, значение величины Ω^{norm} из (4) свидетельствует о с о с т о я н и и организма (при любом контроле) на шкале «норма – патология», которая унифицирована для всех признаков; на этой шкале уже имеют определенный смысл абсолютные значения.

Для исключения неоднозначности в истолковании и применении изложенной выше расчетной схемы необходимо отметить некоторые важные положения:

1. В выражении (4) подразумевается, что признаки являются одинаково важными и независимыми друг от друга (нескоррелированными). Термин «скоррелированность» используется нами для случаев, когда признаки жестко взаимозависимы, что отмечалось выше при обсуждении выражения (2). В действительности это может оказаться неверным. Если в результате специального исследования установлена неодинаковость и установлена степень важности каждого из используемых признаков при воздействии данного токсиканта, то выражение (4) нужно модифицировать аналогично тому, как это предлагалось сделать с выражением (2). Каждое слагаемое в сумме (4) нужно умножить на соответствующий вес данного признака (коэффициент f_i), а в знаменателе вместо N использовать сумму всех этих коэффициентов. Помимо этого, возможна ситуация, когда по степени важности для состояния организма отклонение какого-то признака i в сторону одного предела его референтного интервала отличается от отклонений в сторону другого его предела. Для каждого из таких признаков следует вводить множители (коэффициенты) для отклонений в каждую сторону, которые будут учитывать это обстоятельство и позволят осуществить «выравнивание» степени важности отклонений (это тоже аналогично способу модификации выражения (2)).

2. При расчете Ω^{norm} по выражению (4) нет необходимости исключать из рассмотрения признаки, значение которых в контрольной точке $C_{i_ctrl} = 0$. Это было необходимо лишь при вычислении величины Ω согласно выражению (2), поскольку C_{i_ctrl} являлись знаменателями дробей.

3. Пределы референтных интервалов признаков оцениваются статистически согласно параметрическим или непараметрическим методам [Henny et al., 2000]. При проведении экспериментов конструктивным решением является самостоятельное определение референтных интервалов признаков тех объектов, которые при этом используются. Причина в том, что в разных лабораториях при определении своих собственных референтных интервалов используются различающиеся типы оборудования и разные методы оценки, различные источники и т. д., поэтому нередко возникает разница в этих референтных интервалах и единицах их измерения [Compendium..., 2011]. Отмечены случаи, когда референтные интервалы для одних и тех же объектов, полученные в двух разных лабораториях, даже не перекрывались [Friedberg et al., 2007]; такая ситуация, к сожалению, может осложнить анализ и сравнение собственных результатов с данными литературы.

4. Предполагается, что все признаки, избранные для оценки состояния организма, являются чувствительными к действию данного токсиканта. Именно при этом условии величина отношения для каждого признака согласно (3) будет зависеть от воздействия токсиканта и превысит границу 100 % при выходе за пределы своего референтного интервала. При этом превысит границу 100 % и величина Ω^{norm}, которая отражает средний вклад в состояние организма, приходящийся на один признак. Если же среди избранных окажутся признаки, нечувствительные к воздействию данного токсиканта, то их вклады создадут «шум», а значение

величины Ω^{norm} окажется смещенным, не отразит реального состояния организма. При этом вклад признака может быть и почти нулевым, если C_i оказалось близко к середине референтного интервала. Чем больше доля используемых нечувствительных признаков, тем больше такое смещение. Отметим, что чувствительность признака может измениться и в ходе эксперимента, и даже быть потеряна из-за нарушения защитных биохимических механизмов.

5. Предыдущий пункт тесно связан также с вопросом о надежности определения референтных интервалов. Некоторые признаки, чувствительные в отношении данного токсиканта, могут не быть высокочувствительными, а являться лишь средне- или слабочувствительными. Однако если их референтные интервалы определены надежно (с соблюдением всех предписанных требований: корректного отбора референтной совокупности особей и др. [CLSI, 2000; Henny et al., 2000; Jones, Barker, 2008]), то вклады даже слабочувствительных к данному токсиканту признаков, вносимые в величину Ω^{norm} (и являющиеся результатом соизмерения их сравнительно небольших отклонений с полушириной этих интервалов), перекроют возможные погрешности определения интервалов и в итоге окажутся значимыми. Величина вклада каждого признака будет зависеть от степени его чувствительности.

Токсикологический эксперимент

Описанная выше математическая схема может быть использована для обработки результатов разных экспериментов. В качестве иллюстрации ниже будет приведен один из возможных примеров: обработка части биохимических данных, которые были получены в работах [Разработка..., 2001; Сидоров и др., 2002; Рипатти и др., 2003] при изучении воздействия одного из загрязняющих веществ на речную камбалу. Эксперименты являлись частью комплексных исследований, проведенных в СевНИИРХ ПетрГУ совместно с лабораторией экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН и другими организациями. Работы осуществлялись в соответствии с утвержденными методиками [Методические рекомендации..., 1998]. Эксперименты с рыбами были проведены в аквариальной СевНИИРХ ПетрГУ, биохимический анализ – в лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН; результаты представлены в заключительном отчете [Разработка..., 2001].

Обсуждаемый ниже пример относится к токсиканту MUDPUSH XL D-149 (патентованная смесь), код D-149. Препарат D-149 используется в качестве бурового раствора на нефтяных промыслах и представляет собой ламинарный буфер: смесь бентонита (глина), динатриевой соли 1-гидроксиэтилендифосфоновой кислоты и полисахарида на основе глюкозы и маннозы. В статьях [Сидоров и др., 2002; Рипатти и др., 2003] дано подробное описание методики проведения эксперимента; ее краткое изложение приведено ниже.

Речную камбалу (*Platichthys flesus* L.) отлавливали в Белом море и использовали в аквариальных экспериментах с концентрациями 1, 10 и 100 мг/л препарата D-149 (экспозиция составляла 30 суток). Рыб (возраст 5–6 лет, 2-я стадия зрелости гонад, средняя длина 141 ± 17 мм, масса тела 41 ± 7 г) помещали в аквариумы объемом 35 л, по 8 экземпляров в каждый, и содержали при температуре 10–15 °С. Была налажена аэрация аквариумов и контролировалось содержание кислорода в воде. Фоновой средой служила вода Белого моря, минерализация находилась в пределах 20–25 ‰. Растворы и чистую воду в контроле меняли 2 раза в неделю. По окончании экспериментов рыб обездвиживали и в охлажденном виде доставляли в лабораторию экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН. Фиксация материала, выделение и анализ веществ осуществлялись в соответствии с работами [Сидоров и др., 1981; Биохимические методы..., 1993]. В печени, жабрах, мышцах и гонадах самок речной камбалы определены: общий белок, активность катепсина D (КФ 3.4.23.5), каталазы (КФ 1.11.1.16), ДНКазы (КФ 3.1.3.6), коллагеназы (КФ 3.4.24.3), содержание малонового диальдегида, свободного и связанного (коллагенового) оксипролина, насыщенных жирных кислот (ЖК), мононенасыщенных ЖК, ω3- и ω6-полиненасыщенных ЖК, а также отношение ω3/ω6 ЖК и отношение арахидоновой 20:4ω6*cis* ЖК к линолевой 18:2ω6*cis* ЖК.

Результаты и обсуждение

Итоговые данные об абсолютных и относительных значениях 30 биохимических признаков представлены в таблице 1 [Разработка..., 2001]. По этим данным нами проведены дальнейшие вычисления. Имеющиеся в таблице 1 относительные отклонения всех признаков от контрольных значений (соотношение (1)) позволили вычислить величину Ω, определяемую соотношением (2), для каждой из трех концентраций токсиканта D-149. Расчетные значения величины Ω характеризуют изменения состояния речной камбалы в каждом из этих трех экспериментов, они представлены

Таблица 1. Влияние препарата D-149 на биохимические признаки речной камбалы*

№ п/п	Биохимический признак, ед. изм.		Контроль	Концентрация препарата, мг/л					
				1,0		10		100	
				Величина признака в опыте**					
				абс.	откл., %	абс.	откл., %	абс.	откл., %
1	Белок общий, мг/мл	Печень	11,8	-	-	14	+19	8,4	–29
2		Жабры	5,6	4,4	–21	4,4	–21	5,0	–11
3		Мышцы	4,8	-	-	4,2	–12	4,6	–5
4		Гонады	9,0	7,0	–22	8,2	–9	9,2	+2
5	Оксипролин связанный, мкг/г сухой массы	Мышцы	461	430	–7	420	–9	378,4	–18
6	Катепсин D, ΔD_{280}/г ткани·30 мин	Печень	4,3	4,1	–5	3,2	–26	3,6	–16
7		Жабры	1,2	1,6	+33	1,2	0	1,3	+8
8		Мышцы	0,5	0,9	+80	0,8	+60	1,4	+180
9		Гонады	1,4	2,0	+43	1,3	–7	1,7	+21
10	ДНКаза, ΔD_{260}/г ткани/мин	Печень	0,932	-	-	0,706	–24	0,603	–35
11		Жабры	0,613	0,293	–52	0,356	–42	0,436	–29
12		Мышцы	0,133	0,150	+13	0,200	+50	0,200	+50
13		Гонады	0,486	-	-	0,393	–19	0,416	–14
14	Коллагеназа, мкМоль/г ткани	Печень	0,250	0,245	–2	0,37	+48	0,40	+60
15		Жабры	0,23	0,57	+148	0,42	+83	0,28	+22
16		Мышцы	0,13	0,17	+31	0,26	+100	0,40	+208
17		Гонады	0,16	0,22	+38	0,37	+131	0,77	+381
18	Каталаза, мг H_2O_2/г ткани/мин	Печень	0,43	0,40	–7	0,40	–7	0,43	0
19		Жабры	0,46	0,40	–13	0,43	–7	0,37	–20
20		Мышцы	0,40	0,40	0	0,37	–7	0,37	–7
21		Гонады	0,40	0,40	0	0,43	+8	0,40	0
22	Малоновый диальдегид, нМоль/г ткани	Печень	33,2	30,6	–8	27,2	–18	23,8	–28
23		Мышцы	4,4	17,0	+286	8,5	+93	25,5	+480
24	Оксипролин свободный, мкг/г сухой массы	Мышцы	10,2	8,7	–15	26,2	+157	25,7	+152
25	Насыщенные жирные к-ты, % к сумме ж. к-т	Печень	34,5	32,8	–5	30,2	–12	26,1	–24
26	Мононенасыщ. жирные к-ты, % к сумме ж. к-т	Печень	23,7	23,2	–2	25,4	+7	28,5	+20
27	ω6 жирные кислоты, % к сумме ж. кислот	Печень	19,0	16,3	–14	9,7	–49	9,8	–48
28	ω3 жирные кислоты, % к сумме ж. кислот	Печень	22,8	25,4	+11	34,8	+53	35,7	+57
29	ω3 / ω6	Печень	1,2	1,5	+25	3,6	+200	3,6	+200
30	20:4ω6 / 18:2ω6	Печень	6,3	6,0	–5	20,0	+217	5,5	–13
Приведенное удельное относительное отклонение признаков от контрольных значений **Ω, %** (соотношение (2))***					**29,5**		**49,8**		**71,3**

Примечание. *Данные согласно [Разработка..., 2001]; прочерк в ячейке – отсутствие данных. **Сокращения: абс. – абсолютное значение признака при данной концентрации препарата; откл. – относительное отклонение признака от контроля согласно соотношению (1), округлено до целых значений. ***Результаты расчета **Ω** настоящей работы.

в нижней строке таблицы 1. Оказалось, что с ростом концентрации токсиканта D-149 величина удельного относительного отклонения Ω организма в целом от состояния, избранного в качестве контрольного, возрастает: величина Ω при 1, 10 и 100 мг/л равна ~30, ~50 и ~70 % соответственно.

Иначе говоря, расчет величины Ω позволил сравнить между собой эти три смещения состояния речной камбалы количественно. Расчет Ω проведен точно: предполагали, что все признаки отвечают требованиям, перечисленным при обсуждении соотношения (2) в разделе «Методы». Отметим, что с ростом концентрации токсиканта D-149 вклады разных биохимических признаков организма меняются по величине не обязательно в сторону увеличения; это отвечает общим соображениям [Немова, Высоцкая, 2004].

Однако произвести по имеющимся в таблице 1 данным столь же точный расчет величин Ω^{norm} согласно соотношению (4), чтобы соотнести каждое из состояний речной камбалы количественно с соответствующими областями нормы или патологии, невозможно. Для этого необходимо иметь информацию об абсолютных величинах границ нормальной вариабельности каждого признака, которой, к сожалению, нет. Однако, используя ряд других имеющихся данных, можно косвенно оценить эти границы и в итоге провести иллюстративный расчет соотношения (4). Так, имеются данные об относительных пределах нормальной вариабельности большого количества биохимических показателей рыб [Сидоров, 1983; Сидоров и др., 1989, 2002, 2003; Немова, 1996; Высоцкая, 1999; Немова, Высоцкая, 2004], полученные в итоге многолетних наблюдений. Хотя нам требуются абсолютные величины для признаков, а в цитированных работах речь идет об относительных величинах для показателей (как отмечалось выше, признак – это показатель с учетом тканевой специфичности), все же удается провести оценочный пересчет одних величин в другие. Это осуществлено нами следующим образом. В работах [Сидоров и др., 2002, 2003; Немова, Высоцкая, 2004] все показатели разделены на три группы: а) «сильно варьирующие» в зависимости от различных факторов (например, катепсин D, ДНКаза, коллагеназа, каталаза); б) «слабо варьирующие» (например, общий белок, связанный оксипролин); в) «промежуточные» (например, малоновый диальдегид, свободный оксипролин, жирные кислоты и их отношения); в качестве примеров в скобках здесь перечислены именно те показатели, которые в виде признаков содержатся в таблице 1. В цитированных работах приведены численные значения нижнего и верхнего пределов вариабельности указанных групп показателей в относительной форме согласно выражению (1). Эти численные значения, в процентах, следует рассматривать как оценочные, поскольку в трех цитированных работах они несколько различаются между собой. Важно, однако, что пределы (в процентах) для показателей внутри каждой из трех групп можно в среднем считать одинаковыми. Далее, при переходе от показателей к признакам рекомендуется [Сидоров и др., 2002] проводить уточнение указанных пределов (хотя точных рецептов проведения таких уточнений в литературе не имеется).

Допущение, которое принято нами, согласуется с этими данными и состоит в том, что пределы (в процентах) внутри каждой из трех групп признаков (табл. 1) тоже можно считать в среднем одинаковыми. Тогда, если будут известны абсолютные значения пределов для части признаков в данной группе, недостающие пределы можно определить усреднением. Для перехода от относительных величин пределов к абсолютным нам потребовалось принять второе допущение – о степени чувствительности рассматриваемых признаков. Как было показано [Сидоров и др., 2002; Немова, Высоцкая, 2004], подавляющее большинство анализируемых биохимических признаков в таблице 1 чувствительны к токсиканту D-149 (как и к ряду других) и охватывают основные метаболические пути организма. Наше допущение состоит в том, что чувствительными являются все признаки, и настолько, что их отклики становятся максимально допустимыми при концентрации токсиканта, равной его предельно допустимой концентрации (ПДК). При этом важно отметить, что концентрация 1 мг/л токсиканта D-149, использованная в эксперименте (табл. 1), совпала с величиной его ПДК / ОБУВ (ориентировочного безопасного уровня воздействия) = 1 мг/л [Охрана..., 2000, с. 1–13] или близка к ней [Нормативы..., 2011, с. 102] (ПДК = 2 мг/л). Иными словами, величина отклика каждого признака при 1 мг/л – это один из пределов (нижний или верхний) его референтного интервала. Цель принятого допущения – не упустить среди всех признаков (табл. 1) такие, которые являются наиболее чувствительными к данному токсиканту (что заранее оценить трудно) и сработают при других концентрациях. Принятое допущение, вообще говоря, скорее ухудшает, чем улучшает демонстрационные качества избранного примера, поскольку если отклик каких-то признаков при ПДК не является максимально допустимым, то мы своим выбором искусственно занизили величины их изменения при более высоких концентрациях, т. е. занизили итоговые величины Ω^{norm}. Двух указанных допущений оказалось достаточно для итоговой оценки искомых численных значений границ нормальной вариабельности признаков (пределов референтных интервалов); они приведены в таблице 2. Эти данные использованы для последующего расчета величин, отвечающих серединам референтных интервалов, полуширине каждого интервала, и в итоге – величин Ω^{norm} согласно (4) в двух других экспериментах – при 10 и 100 мг/л токсиканта. Результаты расчетов приведены в таблице 2. Подчеркнем, что поскольку при оценке пределов референтных интервалов были приняты допущения (описанные выше), то полученные для Ω^{norm} результаты следует рассматривать лишь в качестве тестовых.

Таблица 2. Влияние препарата D-149 на состояние речной камбалы*

№ п/п	Биохимический признак, ед. изм.		Пределы референтного интервала признака	Середина рефер. инт.	Полушир. реф. инт.	Вклад призн. в контр. сост. в соотн. (5), %	Конц. препарата, мг/л		
							1	10	100
							Вклад признака в откл. от середины рефер. инт. (соотношение (3)), %		
1	Белок общий, мг/мл	Печень	9,9–15,3	12,6	2,7	29,6	-	51,8	155,6
2		Жабры	4,4–7,3	5,85	1,45	17,2	100,0	100,0	58,6
3		Мышцы	4,0–6,2	5,1	1,1	27,3	-	81,8	45,4
4		Гонады	7,0–11,7	9,35	2,35	14,9	100,0	48,9	6,4
5	Оксипролин связанный, мкг/г сухой массы	Мышцы	430–599	514,5	84,5	63,3	100,0	111,8	161,1
6	Катепсин D, ΔD_{280}/г ткани·30 мин	Печень	4,1–6,7	5,4	1,3	84,6	100,0	169,2	138,5
7		Жабры	0,96–1,6	1,28	0,32	25,0	100,0	25,0	6,2
8		Мышцы	0,4–0,9	0,65	0,25	60,0	100,0	60,0	300,0
9		Гонады	1,1–2,0	1,55	0,45	33,3	100,0	55,6	33,3
10	ДНКаза, ΔD_{260}/г ткани/мин	Печень	0,746–1,440	1,093	0,347	46,4	-	111,5	141,2
11		Жабры	0,293–0,950	0,6215	0,3285	2,6	100,0	80,8	56,5
12		Мышцы	0,106–0,150	0,128	0,022	22,7	100,0	327,3	327,3
13		Гонады	0,389–0,753	0,571	0,182	46,7	-	97,8	85.2
14	Коллагеназа, мкМоль/г ткани	Печень	0,245–0,388	0,3165	0,0715	93,0	100,0	74,8	116,8
15		Жабры	0,18–0,57	0,375	0,195	74,4	100,0	23,1	48,7
16		Мышцы	0,10–0,17	0,135	0,035	14,3	100,0	357,1	757,1
17		Гонады	0,13–0,22	0,175	0,045	33,3	100,0	433,3	1322,2
18	Каталаза, мг H_2O_2/г ткани/мин	Печень	0,40–0,67	0,535	0,135	77,8	100,0	100,0	77,8
19		Жабры	0,40–0,71	0,555	0,155	61,3	100,0	80,6	119,4
20		Мышцы	0,40–0,62	0,51	0,11	100,0	100,0	127,3	127,3
21		Гонады	0,40–0,62	0,51	0,11	100,0	100,0	72,7	100,0
22	Малоновый диальдегид, нМоль/г ткани	Печень	30,6–68,7	49,65	19,05	86,4	100,0	117,8	135,7
23		Мышцы	4,05–17,0	10,525	6,475	94,6	100,0	31,3	231,3
24	Оксипролин свободный, мкг/г сухой массы	Мышцы	8,7–21,1	14,9	6,2	75,8	100,0	182,3	174,2
25	Насыщенные жирные к-ты, % к сумме ж. к-т	Печень	32,8–71,4	52,1	19,2	91,7	100,0	113,5	134,7
26	Мононенасыщ. жирные к-ты, % к сумме ж. к-т	Печень	23,2–49,1	36,15	12,95	96,1	100,0	83,0	59,1
27	ω6 жирные кислоты, % к сумме ж. кислот	Печень	16,3–39,3	27,8	11,5	76,5	100,0	157,4	156,5
28	ω^3 жирные кислоты, % к сумме ж. кислот	Печень	21,0–25,4	23,2	2,2	18,2	100,0	527,3	568,2
29	ω3 / ω6	Печень	1,1–1,5	1,3	0,2	50,0	100,0	1150,0	1150,0
30	20:4ω6 / 18:2ω6	Печень	6,0–13,0	9,5	3,5	91,4	100,0	300,0	114,3
Приведенное удельное относительное отклонение признаков в контрольных точках от середины референтных интервалов (соотношение (5)) $(\boldsymbol{\Omega}^{norm})_{ctrl}$, %						**56,9**			
Приведенное удельное относительное отклонение признаков в экспериментах от середины референтных интервалов (соотношение (4)) $\boldsymbol{\Omega}^{norm}$, %							**86,7**	**175,1**	**230,3**

Примечание. *Оценки пределов референтных интервалов признаков и других величин; оценки приведенных удельных относительных отклонений признаков согласно соотношению (4). Сокращения: середина рефер. инт. – величина (½) · (C_{i_lower} + C_{i_upper}); полушир. реф. инт. – величина (½) · (C_{i_upper} – C_{i_lower}); вклад призн. в контр. сост. в соотн. (5) – вклад данного признака в контрольном состоянии в отклонение от середины референтного интервала (слагаемое в соотношении (5)). Прочерк в ячейке означает отсутствие данных.

Тем не менее они позволили проиллюстрировать математическую схему на численных примерах: Ω^{norm} ~ 175 % при 10 мг/л токсиканта и Ω^{norm} ~ 230 % при 100 мг/л, т. е. Ω^{norm} превысили значение 100 % весьма значительно. При этом состоянию контроля, как показал расчет (табл. 2), отвечает величина Ω^{norm} ~56 %, т. е. это состояние оказалось в области нормы.

Итак, при изменении концентрации токсиканта в данных экспериментах не просто

увеличивается смещение состояния речной камбалы от контроля (о чем свидетельствовали и величины Ω), а показано, что состояния эти при 10 и 100 мг/л токсиканта определенно находятся уже за рамками нормы. Подобные состояния организмов часто характеризуются нарушением защитных и адаптивных биохимических механизмов на разных уровнях [Немова, Высоцкая, 2004].

Заключение

Обработка результатов экспериментов, описанных выше, позволила продемонстрировать, что предложенный подход к анализу данных является конструктивным. Даже использование только объединения признаков различного происхождения, размерности, методов измерения в единую составную характеристику Ω (согласно соотношению (2)) позволило сравнить между собой степени воздействия на состояние речной камбалы в целом одного из токсикантов в разных концентрациях. Вычисление же единой характеристики Ω^{norm} (согласно соотношению (4)), т. е. соизмерение величин всех признаков с их референтными интервалами, позволило, несмотря на ряд вынужденных допущений, численно оценить состояние речной камбалы по шкале «норма – патология» при разных концентрациях токсиканта. При более строгом определении пределов референтных интервалов признаков следует ожидать более точных оценок состояния изучаемых объектов.

Достоинство предложенного подхода, как представляется, состоит в том, что удается объединить данные из разных источников о воздействии внешних факторов на состояние организма и проводить их сравнение. Вычисление величины Ω^{norm} согласно (4) позволяет не только оценить состояние организма данного вида, но, с другой стороны, дать некоторую количественную «характеристику токсичности» данного токсиканта по отношению к этому организму. Использование единого количественного критерия Ω^{norm} позволяет ставить вопрос о разработке различных баз данных, например, а) по влиянию некоторого токсиканта на состояние разных организмов, б) по влиянию разных токсикантов на состояние одного организма. Переменными величинами в этих базах данных могут являться наборы признаков и условия применения (воздействия) токсикантов.

Работа выполнена при поддержке средств федерального бюджета РФ, гос. задание по теме № 0221-2014-0033 (для А. Л. Рабиновича и Р. У. Высоцкой), и гранта 310465 (MembraneNanoPart) 7-й рамочной программы (FP7) Европейского сообщества для научного, технологического развития и проявления активности (для А. Л. Рабиновича, A. P. Lyubartsev, N. Quirke, V. A. Lobaskin).

Литература

Биохимические методы в экологических и токсикологических исследованиях. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 1993. 234 с.

Высоцкая Р. У. Лизосомальные ферменты у рыб и влияние на них природных, антропогенных и патогенных факторов: автореф. дис. … докт. биол. наук. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 1999. 42 с.

Гелашвили Д. Б., Лисовенко А. В., Безруков М. Е. Применение интегральных показателей на основе функции желательности для комплексной оценки качества сточных вод // Поволжский экологический журнал. 2010. № 4. С. 343–350.

Гелашвили Д. Б., Безель В. С., Романова Е. Б., Безруков М. Е., Силкин А. А., Нижегородцев А. А. Принципы и методы экологической токсикологии / Под ред. проф. Д. Б. Гелашвили. Нижний Новгород: ННГУ, 2016. 702 с.

Методические рекомендации по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. 145 с.

Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.

Немова Н. Н. Внутриклеточные протеолитические ферменты у рыб. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 1996. 106 с.

Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215 с.

Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.: Изд-во ВНИРО, 2011. 257 с.

Охрана окружающей среды. Раздел 1.5. Характеристика буровых и иных растворов. Изд-во Сахалин Энерджи Инвестмент Компани Лтд. 2000 [Электронный ресурс]. URL: http://www.sakhalinenergy.ru/media/93d74ffc-a623-4cc8-843e-78f89a643656.pdf (дата обращения: 10.04.2017).

Разработка теоретических основ эколого-биохимического тестирования и мониторинга. Отчет о научно-исследовательской работе (заключительный) лаборатории экологической биохимии Института биологии КарНЦ РАН за 1996–2000 гг. № гос. регистрации 01.9.60003521. Петрозаводск, 2001. 269 с.

Рипатти П. О., Феклов Ю. А., Руоколайнен Т. Р., Маркова Л. В., Нефедова З. А., Тойвонен Л. В., Зекина Л. М. Липиды печени и мышц камбалы *Platichthys flesus* L. при воздействии компонентов буровых растворов в аквариальных опытах // Современные проблемы физиологии и экологии морских

животных. Сб. научных трудов. Апатиты: НЦ РАН, 2003. С. 157–168.

Сидоров В. С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. М.: Наука, 1983. 240 с.

Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М. Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Вильнюс, 1981. Ч. 4. С. 58–68.

Сидоров В. С., Высоцкая Р. У., Смирнов Л. П., Гурьянова С. Д. Сравнительная биохимия гельминтов рыб. Аминокислоты, белки, липиды. Л.: Наука, 1989. 152 с.

Сидоров В. С., Немова Н. Н., Высоцкая Р. У., Феклов Ю. А. Использование интегрального биохимического индекса при определении предельно допустимых концентраций промышленных токсикантов // Прикл. биохимия и микробиол. 2002. Т. 38, № 3. С. 345–350.

Сидоров В. С., Немова Н. Н., Высоцкая Р. У., Такшеев С. А. Вариабельность интегрального биохимического индекса у рыб под влиянием техногенных вод горно-обогатительного комбината // Экология. 2003. № 4. С. 274–280.

A textbook of modern toxicology / Ed. by E. Hodgson. 4th eds. Hoboken, New Jersey: J. Wiley & Sons, Inc. 2010. 674 p.

Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline – second ed. CLSI document C28-A2. Wayne, PA, USA: CLSI; 2000.

Compendium of reference intervals. Bulletin No. 44. Chris Higgins and Radiometer Medical ApS, 2700 Brønshøj, Denmark, 2011.

Fiorino C., Maggiulli E., Broggi S., Liberini S., Cattaneo G. M., Dell'Oca, Faggiano E., Di Muzio N., Calandrino R., Rizzo G. Introducing the Jacobian-volume-histogram of deforming organs: application to parotid shrinkage evaluation // Phys. Medicine Biol. 2011. Vol. 56. P. 3301–3312. doi: 10.1088/0031–9155/56/11/008

Friedberg R. C., Souers R., Wagar E. A., Stankovic A. K., Valenstein P. N. The origin of reference intervals – A college of American pathologists Q-probes study of "normal ranges" used in 163 clinical laboratories // Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 2007. Vol. 131, no. 3. P. 348–357.

Gironés X., Carbó-Dorca R. Modelling toxicity using molecular quantum similarity measures // QSAR & Combinational Sci. 2006. Vol. 25, no. 7. P. 579–589. doi: 10.1002/qsar. 200530128

Henny J., Petitclerc C., Fuentes-Arderiu X., Petersen P. H., Queraltó J. M., Schiele F., Siest G. Need for revisiting the concept of reference values // Clin. Chem. Lab. Med. 2000. Vol. 38, no. 7. P. 589–595. doi: 10.1515/CCLM.2000.085

Jones G., Barker A. Reference Intervals // Clin. Biochem. Rev. 2008. Vol. 29. Suppl 1. P. 93–97.

Khadikar P. V., Karmarkar S., Singh S., Shrivastava A. Use of the PI index in predicting toxicity of nitrobenzene derivatives // Bioorg. Med. Chem. 2002. Vol. 10, no. 10. P. 3163–3170. doi: 10.1016/S0968-0896(02)00211-0

Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel // Science 2006. Vol. 311, no. 5761. P. 622–627. doi: 10.1126/science.1114397

Nigsch F., Macaluso N. J., Mitchell J. B., Zmuidinavicius D. Computational toxicology: an overview of the sources of data and of modelling methods // Expert. Opin Drug Metab. Toxicol. 2009. Vol. 5, no. 1. P. 1–14. doi: 10.1517/17425250802660467

Péry A. R. R., Ducrot V., Mons R., Garric J. Modelling toxicity and mode of action of chemicals to analyse growth and emergence tests with the midge Chironomus riparius // Aquatic Toxicol. 2003. Vol. 65. P. 281–292. doi: 10.1016/S0166-445X(03)00151-6

Tantra R., Oksel C., Puzyn T., Wang J., Robinson K. N., Wang X. Z., Ma C. Y., Wilkins T. Nano (Q) SAR: Challenges, pitfalls and perspectives // Nanotoxicol. 2015. Vol. 9, no. 5. P. 636–642. doi: 10.3109/17435390.2014.952698

Yuan Y., Yin G. Bayesian dose finding by jointly modelling toxicity and efficacy as time-to-event outcomes // J. Royal Stat. Soc. C. 2009. Vol. 58, no. 5. P. 719–736. doi: 10.1111/j.1467-9876.2009.00674.x

Valerio L. G. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences // Toxicol. & Appl. Pharmacol. 2009. Vol. 241, no. 3. P. 356–370. doi: 10.1016/j.taap.2009.08.022

Поступила в редакцию 25.04.2017

References

Biokhimicheskie metody v ekologicheskikh i toksikologicheskikh issledovaniyakh [Biochemical methods for ecological and toxicological studies]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 1993. 234 p.

Gelashvili D. B., Lisovenko A. V., Bezrukov M. E. Primenenie integralnykh pokazatelei na osnove funktsii zhelatelnosti dlya kompleksnoi otsenki kachestva stochnykh vod [The application of integral indices based on desirability function for complex estimation of sewage quality]. *Povolzhskii ekologicheskii zhurnal* [*Povolzhskiy Journal of Ecology*]. 2010. No. 4. P. 343–350.

Gelashvili D. B., Bezel V. S., Romanova E. B., Bezrukov M. E., Silkin A. A., Nizhegorodtsev A. A. Printsipy i metody ekologicheskoi toksikologii [Principles and methods of ecological toxicology]. Ed. prof. D. B. Gelashvili. Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State University Press, 2016. 702 p.

Metodicheskie recomendatsii po ustanovleniyu ecologo-rybokhozyaistvennykh normativov (PDK i OBUV) zagryaznyayushchikh veshchestv dlya vody vodnykh ob'ektov, imeyushchikh rybokhozyaistvennoe znachenie [Procedural recommendations for setting ecological standards (maximum permissible concentrations and safe reference levels of impact] of pollutants in water of the water bodies having commercial fishing importance]. Moscow: VNIRO Publ., 1998. 145 p.

Moiseenko T. I. Vodnaya ekotoksikologiya. Teoreticheskiye i prikladnye aspekty [Water ecotoxicology.

Theoretical and applied aspects]. Moscow: Nauka Publ., 2009. 608 p.

Nemova N. N. Vnutrikletochnye proteoliticheskie fermenty u ryb [Intracellular proteolytic enzymes of fish]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 1996. 106 p.

Nemova N. N., Vysotskaya R. U. Biokhimicheskaya indikatsiya sostoyaniya ryb [Biochemical indication of fish state]. Moscow: Nauka Publ., 2004. 215 p.

Normativy kachestva vody vodnykh ob'ektov rybokhozyaistvennogo znacheniya, v tom chisle normativy predel'no dopustimykh kontsentratsii vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybokhozyaistvennogo znacheniya [Water quality standards of the water bodies having commercial fishing importance including maximum permissible concentrations of pollutants in water of the water bodies having commercial fishing importance]. Moscow: VNIRO Publ., 2011. 257 p.

Okhrana okruzhayushchei sredy. Razdel 1.5. Kharakteristika burovykh i inykh rastvorov [Environmental protection. Section 1.5. Characteristics of drilling and other solutions]. Sakhalin Energy Investment Co. Ltd. 2000 [Electronic resources]. URL: http://www.sakhalinenergy.ru/media/93d74ffc-a623-4cc8-843e-78f89a643656. pdf (accessed: 10.04.2017).

Razrabotka teoreticheskikh osnov ekologo-biokhimicheskogo testirovaniya i monitoringa [Development of theoretical basics of ecological and biochemical testing and monitoring]. Final research report of the ecological biochemistry laboratory, Institute of Biology of the Karelian Research Centre, RAS, 1996–2000. State registration No. 01.9.60003521. Petrozavodsk, 2001. 269 p.

Ripatti P. O., Feklov Yu. A., Ruokolainen T. R., Markova L. V., Nefedova Z. A., Toivonen L. V., Zekina L. M. Lipidy pecheni i myshts kambaly *Platichthys flesus* L. pri vozdeistvii komponentov burovykh rastvorov v akvarial'nykh opytakh [Lipids of the plaice *Platichthys flesus* L. liver and muscles under the impact of drilling solutions components in aquarial experiments]. Sovremennye problemy fiziologii i ecologii morskikh zhivotnykh [Current Problems of Physiology and Ecology of Sea Animals]. Collected articles. Apatity: Kola Science Centre, Russian Academy of Sciences, 2003. P. 157–168.

Sidorov V. S. Ekologicheskaya biokhimiya ryb. Lipidy [Ecological biochemistry of fish. Lipids]. Moscow: Nauka, 1983. 240 p.

Sidorov V. S., Lizenko Ye. I., Bolgova O. M. Tipovye metodiki issledovaniya produktivnosti vidov ryb v predelakh ikh arealov [Standard methods for studying fish species productivity within their natural habitats]. Vilnius, 1981. Part 4. P. 58–68.

Sidorov V. S., Vysotskaya R. U., Smirnov L. P., Guryanova S. D. Sravnitel'naya biokhimiya gel'mintov ryb. Aminokisloty, belki, lipidy [Comparative biochemistry of fish helminths. Amino acids, proteins, lipids]. Leningrad: Nauka, 1989. 152 p.

Sidorov V. S., Nemova N. N., Vysotskaya R. U., Feklov Yu. A. Ispol'zovanie integral'nogo biokhimicheskogo indeksa pri opredelenii predel'no dopustimykh kontsentratsii promyshlennykh toksikantov [Determination of maximum permissible concentrations of industrial toxicants using the integral biochemical index]. *Applied Biochem. Microbiol*. 2002. Vol. 38. P. 298–302.

Sidorov V. S., Nemova N. N., Vysotskaya R. U., Taksheev S. A. Variabel'nost' integral'nogo biokhimicheskogo indeksa u ryb pod vliyaniem tekhnogennykh vod gorno-obogatitel'nogo kombinata [Variability of the integral biochemical index in fish exposed to technogenic water of mining and ore-processing works]. *Russian Journal of Ecology*. 2003. Vol. 34. P. 242–247.

Vysotskaya R. U. Lizosomal'nye fermenty u ryb i vliyanie na nikh prirodnykh, antropogennykh i patogennykh faktorov [Lysosomal enzymes of fish and natural, anthropogenic, and pathogenic factors impact on these enzymes]: Summary of PhD (Dr. of Biol.) thesis. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 1999. 42 p.

A textbook of modern toxicology. Ed. by E. Hodgson. 4th eds. Hoboken, New Jersey: J. Wiley & Sons, Inc. 2010. 674 p.

Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline – second ed. CLSI document C28-A2. Wayne, PA, USA: CLSI; 2000.

Compendium of reference intervals. Bulletin No. 44. Chris Higgins and Radiometer Medical ApS, 2700 Brønshøj, Denmark, 2011.

Fiorino C., Maggiulli E., Broggi S., Liberini S., Cattaneo G. M., Dell'Oca, Faggiano E., Di Muzio N., Calandrino R., Rizzo G. Introducing the Jacobian-volume-histogram of deforming organs: application to parotid shrinkage evaluation. *Phys. Medicine Biol*. 2011. Vol. 56. P. 3301–3312. doi: 10.1088/0031-9155/56/11/008

Friedberg R. C., Souers R., Wagar E. A., Stankovic A. K., Valenstein P. N. The origin of reference intervals – A college of American pathologists Q-probes study of "normal ranges" used in 163 clinical laboratories. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2007. Vol. 131, no. 3. P. 348–357.

Gironés X., Carbó-Dorca R. Modelling toxicity using molecular quantum similarity measures. *QSAR & Combinational Sci.* 2006. Vol. 25, no. 7. P. 579–589. doi: 10.1002/qsar.200530128

Henny J., Petitclerc C., Fuentes-Arderiu X., Petersen P. H., Queraltó J. M., Schiele F., Siest G. Need for revisiting the concept of reference values. *Clin. Chem. Lab. Med*. 2000. Vol. 38, no. 7. P. 589–595. doi: 10.1515/CCLM.2000.085

Jones G., Barker A. Reference Intervals. *Clin. Biochem. Rev*. 2008. Vol. 29. Suppl 1. P. 93–97.

Khadikar P. V., Karmarkar S., Singh S., Shrivastava A. Use of the PI index in predicting toxicity of nitrobenzene derivatives. *Bioorg. Med. Chem*. 2002. Vol. 10, no. 10. P. 3163–3170. doi: 10.1016/S0968-0896(02)00211-0

Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science* 2006. Vol. 311, no. 5761. P. 622–627. doi: 10.1126/science.1114397

Nigsch F., Macaluso N. J., Mitchell J. B., Zmuidinavicius D. Computational toxicology: an overview of the sources of data and of modelling methods. *Expert. Opin Drug Metab. Toxicol*. 2009. Vol. 5, no. 1. P. 1–14. doi: 10.1517/17425250802660467

Péry A. R. R., Ducrot V., Mons R., Garric J. Modelling toxicity and mode of action of chemicals to analyse growth and emergence tests with the midge Chironomus riparius. *Aquatic Toxicol*. 2003. Vol. 65. P. 281–292. doi: 10.1016/S0166-445X(03)00151-6

Tantra R., Oksel C., Puzyn T., Wang J., Robinson K. N., Wang X. Z., Ma C. Y., Wilkins T. Nano (Q) SAR: Challenges, pitfalls and perspectives. *Nanotoxicol*. 2015. Vol. 9, no. 5. P. 636–642. doi: 10.3109/17435390.2014.952698

Yuan Y., Yin G. Bayesian dose finding by jointly modelling toxicity and efficacy as time-to-event outcomes. *J. Royal Stat. Soc. C.* 2009. Vol. 58, no. 5. P. 719–736. doi: 10.1111/j.1467-9876.2009.00674.x

Valerio L. G. In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol. & Appl. Pharmacol*. 2009. Vol. 241, no. 3. P. 356–370. doi: 10.1016/j.taap.2009.08.022

Received April 25, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рабинович Александр Львович
главный научный сотрудник, д. ф.-м. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: rabinov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Высоцкая Римма Ульяновна
главный научный сотрудник, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: rimma@bio.krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Любарцев Александр Павлович
профессор, к. ф.-м. н.
Стокгольмский университет,
отделение физической химии, факультет материалов и химии окружающей среды
Стокгольм, Швеция
эл. почта: alexander.lyubartsev@mmk.su.se
тел.: +468161193

Квёрк Николас
профессор
Имперский колледж науки, технологии и медицины,
факультет естественных наук, отделение химии
Лондон, Великобритания
эл. почта: n.quirke@imperial.ac.uk
тел.: +44 (0) 2075945844

Лобаскин Владимир Анатольевич
доцент, д. ф.-м. н.
Университетский колледж Дублина, Школа физики
Дублин, Ирландия
тел.: +35317162432
эл. почта: vladimir.lobaskin@ucd.ie

CONTRIBUTORS:

Rabinovich, Alexander
Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St. 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rabinov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

Vysotskaya, Rimma
Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St. 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rimma@bio.krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

Lyubartsev, Alexander
Division of Physical Chemistry, Department of Material and Environmental Chemistry, Stockholm University
Svänte Arrhenius väg. 16C, S 10691, Stockholm, Sweden
e-mail: alexander.lyubartsev@mmk.su.se
tel.: +468161193

Quirke, Nicholas
Imperial College of Science, Technology and Medicine,
Faculty of Natural Sciences, Department of Chemistry
Exhibition Road, South Kensington, London, SW7 2AZ, United Kingdom
e-mail: n.quirke@imperial.ac.uk
tel.: +44 (0) 2075945844

Lobaskin, Vladimir
School of Physics, University College Dublin
4 Belfield, Dublin, Ireland
e-mail: vladimir.lobaskin@ucd.ie
tel.: +35317162432

View publication stats