

# ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ПО МЕТОДАМ ОЭСР. ОСОБЕННОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

Е.С.Юркевич, Д.О.Борщевская, И.И.Ильюкова

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр  
гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

**Резюме:** С целью гармонизации национальных нормативных актов с принятыми в Евросоюзе, необходимо научно оценить показатели по оценке

безопасности химической продукции, наработать данные по изучению различий в процедуре оценки путем сравнения с национальными методическими подходами, используемыми для тестирования химической продукции.

Нами проведена сравнительная оценка токсикологических методов по изучению мутагенной активности химических веществ, используемых в Республике Беларусь, и методов, используемых организацией экономического сотрудничества и развития (далее – ОЭСР), которые на данном этапе развития токсикологической науки являются наиболее адекватными и признаваемыми в мире.

**Ключевые слова:** мутагенная активность, микроядерный тест, методы ОЭСР.

**Summary:** In order to harmonize national legislation with the European Union ones, it is necessary to evaluate the scientific indicators to assess the safety of chemical products, to accumulate data for the study of differences in the assessment procedure by comparison with national methodological approaches used for testing chemical products.

We carried out a comparative assessment of toxicological methods of evaluation the mutagenic activity of chemicals used in the Republic of Belarus, and the methods used by the Organization for Economic Cooperation and Development (hereinafter - OECD), which are the most appropriate and recognized in the world at this stage of toxicological science.

**Key words:** mutagenic activity, micronucleus test, OECD methods.

**Введение.** Управление рисками химического воздействия на человека и окружающую среду требует использования методик токсикологической оценки, признаваемых всеми странами. В Евросоюзе и США исследования химической продукции проводят в соответствии с системой GHS/ СГС (Глобальной гармонизированной системой классификации и маркировки химических веществ) Организации Объединенных Наций и регламента Евросоюза REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals). Для классификации химических веществ по СГС применяют методы, разработанные в соответствии с требованиями ОЭСР.

В настоящее время методы токсикологических исследований, выполняемые в соответствии с требованиями ОЭСР, одобрены рабочей группой ОЭСР Межведомственного координационного комитета по проверке достоверности альтернативных методов (ICCVAM), Национальной токсикологической программой (NTP) и Межведомственным центром оценки альтернативных токсикологических методов (NICEATM) в соответствии с системой GHS (СГС) Организации Объединенных Наций и регламентом REACH.

В Республике Беларусь существует проблема адаптации и экспериментального обоснования методов токсикологической оценки химических веществ, гармонизированных с требованиями ОЭСР, позволяющих проводить признаваемые за рубежом исследования на международном уровне. Проведение токсикологических исследований в соответствии с требованиями ОЭСР является обязательным и при оценке безопасности химической продукции в соответствии с принятыми Техническими регламентами Таможенного союза, особенно, с учетом перспективы вступления стран-участниц Таможенного союза в ВТО.

**Материалы и методы.** Для изучения мутагенного действия *in vivo* и *in vitro* использованы пять групп химических веществ – пестициды зарубежного и отечественного синтеза, лакокрасочные материалы, химические композиции бытовой и промышленной химии. Предметом исследований являлись токсикологические эксперименты по методам ОЭСР № 473, № 474 и № 475, проведенные в сравнении с методом, принятым в Республике Беларусь. Эксперименты на животных проведены с соблюдением правил биоэтики. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием компьютерной программы STATISTICA 6.

**Результаты и обсуждение.** Проведен анализ методов ОЭСР № 473, № 474 и № 475, на основании которого разработаны программа и план экспериментальных исследований по изучению мутагенного действия выбранных в качестве тестируемых объектов групп химических соединений.

Экспериментальные токсикологические исследования, проведенные на белых крысах, позволили установить различия в методологии проведения эксперимента по методам ОЭСР.

Метод ОЭСР № 473 требует использования экзогенных источников метаболической активации *in vitro*, которые не могут полностью имитировать условия метаболизма у млекопитающих *in vivo*, следовательно, метод не дает прямой информации по мутагенному и канцерогенному потенциалу химического вещества в отношении млекопитающих, но позволяет выявить факторы, которые индуцируют структурные aberrации хромосом в культивируемых клетках млекопитающих.

Метод ОЭСР № 474 устанавливает порядок проведения испытания химических веществ в микроядерном тесте на эритроцитах млекопитающих *in vivo* и позволяет выявить индукцию исследуемым веществом нарушений хромосом или митотического аппарата эритробластов при анализе эритроцитов в костном мозге или в периферической крови животных, обычно грызунов, с целью идентификации веществ, вызывающих цитогенетические нарушения, которые формируют микроядра, содержащие отставшие фрагменты хромосом или целые хромосомы.

Метод ОЭСР № 475 - оценка хромосомных aberrаций в клетках костного мозга млекопитающих (обычно грызунов) *in vivo* для анализа структурных aberrаций хромосом (хроматидных и хромосомных), индуцированных исследованным соединением, возрастание полиплоидии указывает на возможность индукции веществом нарушений числа хромосом. Как правило, химические мутагены индуцируют aberrации хроматидного типа у объектов исследований, которые могут повлиять на достоверность и сопоставимость результатов эксперимента по определению мутагенной активности изучаемых химических веществ.

Полученные в результате исследований данные позволяют установить некоторые особенности, характерные для каждого метода исследований.

Так, метод ОЭСР № 473 не дает точной корреляции между результатами канцерогенности у млекопитающих и человека, уровень которой зависит от класса химического соединения, кроме того, имеются канцерогенные вещества, которые не выявляются в данном тесте, потому что они действуют по иным механизмам, чем прямое повреждение ДНК; следовательно, данный тест будет использоваться для скрининга потенциальных мутагенов и канцерогенов для млекопитающих.

Установлено, что методы ОЭСР №№ 474-475 являются наиболее адекватными при оценке мутагенной опасности у млекопитающих *in vivo*, поскольку позволяют учесть такие факторы, как метаболизм, фармакокинетику вещества, процессы репарации ДНК, которые могут варьировать от вида к виду, в разных тканях и для разных генетических событий. Данные тесты полезны при дальнейшей оценке мутагенного эффекта, выявленного в тест-системах *in vitro*, но не подходят для оценки веществ, активных метаболитов.

**Выводы.** Проведение аккредитованными лабораториями токсикологических исследований в Республике Беларусь в соответствии с требованиями ОЭСР при оценке безопасности химической продукции является показателем высокого международного уровня исследователей и необходимым условием для признания данных исследований за рубежом, что особенно важно с учетом перспективы вступления стран-участниц Таможенного союза в ВТО.

Для экспресс-оценки мутагенной активности химической продукции в тест-системах *in vitro* целесообразно применять метод ОЭСР № 473, как достаточно информативный, но и наиболее гуманный по отношению к животным, позволяющий существенно сократить количество лабораторных животных, и при этом провести скрининг потенциальных мутагенов и канцерогенов для млекопитающих в соответствии с международными требованиями.

Наиболее полную оценку химических веществ в плане дальнейшей оценке мутагенного эффекта у млекопитающих *in vivo*, выявленного в тест-системах *in vitro*, следует проводить по методам ОЭСР № 474 и № 475, которые, однако, не подходят для оценки веществ, активных метаболитов.

Следовательно, при условии неукоснительного соблюдения процедуры испытаний и требований к протоколу исследований, изучение мутагенной активности по методам ОЭСР № 473, № 474 и № 475 в тест-системах *in vitro* и на млекопитающих *in vivo*, позволит классифицировать изучаемое химическое вещество в соответствии с международными требованиями.

### Литература

1. Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск., 2004. – 43 с.

2. Метод OECD TG № 473 «In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test» (ОЭСР Руководство № 473 «Метод оценки хромосомных aberrаций в клетках млекопитающих *in vitro*»): междунар. документ: разработан Организацией Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР/OECD): принят 21 июня 1997 г.

3. Метод OECD TG № 474 «Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test» (ОЭСР Руководство № 474 «Микроядерный тест на эритроцитах млекопитающих»): междунар. документ: разработан Организацией Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР/OECD): принят 21 июня 1997 г.

4. Метод OECD TG № 475 «Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test» (ОЭСР Руководство № 475 «Метод оценки хромосомных aberrаций в клетках костного мозга млекопитающих»): междунар. документ: разработан Организацией Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР/OECD): принят 21 июня 1997 г.