

The National  
Academies of

SCIENCES  
ENGINEERING  
MEDICINE

THE NATIONAL ACADEMIES PRESS

This PDF is available at <http://www.nap.edu/24635>



Using 21st Century Science to Improve Risk-Related Evaluations

**DETAILS**

200 pages | 8.5 x 11 | PAPERBACK  
ISBN 978-0-309-45348-6 | DOI: 10.17226/24635

**CONTRIBUTORS**

Committee on Incorporating 21st Century Science into Risk-Based Evaluations; Board on Environmental Studies and Toxicology; Division on Earth and Life Studies; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine

## Наука 21-го века: вклад в оценку ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ

Глава 5: Новая стратегия оценки риска и ее применение в 21 веке

Перевод на русский язык: Баландина Юлия Геннадиевна  
Редактор русского перевода: д.б.н. Суворов Александр Николаевич

## **НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ОЦЕНКИ РИСКА И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В 21 ВЕКЕ**

Научно-технические достижения, описанные в главах 2-4, открывают новые возможности для лучшей идентификации и оценки риска с целью принятия решений в области охраны окружающей среды и общественного здравоохранения. Для понимания этих возможностей, в данной главе сначала обсуждаются новые направления оценки риска, а затем возможности их применения (см. Вставку 1-3). Кроме того, в настоящей главе приводятся конкретные примеры практических подходов по использованию современных научно-технических достижений вместе с традиционными и проверенными на практике токсикологическими и эпидемиологическими подходами для получения более надежных данных, используемых в процессе принятия решений. Отдельное внимание уделено вопросам обмена информацией между заинтересованными сторонами (теми, кто собирает данные и теми, кто занимается их обработкой). В заключении кратко обсуждаются основные проблемы и рекомендации по решению этих проблем.

### **НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ОЦЕНКИ РИСКА**

Полугодовой отчет Национального научно-исследовательского совета 1983 года (NRC) «Оценка риска в федеральном правительстве: управление процессом» (Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process, NRC 1983) определил оценку риска как «использование фактической базы для определения влияния экспозиции опасными материалами или ситуациями на здоровье человека или популяции в целом». В докладе отмечалось, что оценка риска включает четыре компонента - идентификация опасности, оценка экспозиции, оценка зависимости доза-реакция и характеристика риска - и что оценка риска содержит все или некоторые из них. Также в докладе было сказано, что для обеспечения качественного или количественного описания риска для принятия защитных или превентивных мер необходимо интегрировать различные потоки данных из токсикологических, клинических, эпидемиологических и экологических исследований. Комитет однозначно описал ситуации, приводящие к неточностям (когда информация об определенном веществе отсутствует, неоднозначна или когда имеются пробелы в текущей научной теории), и призвал к заполнению пробелов в знаниях, чтобы процесс оценки рисков не прерывался. До сих пор оценка риска в значительной степени основывалась на

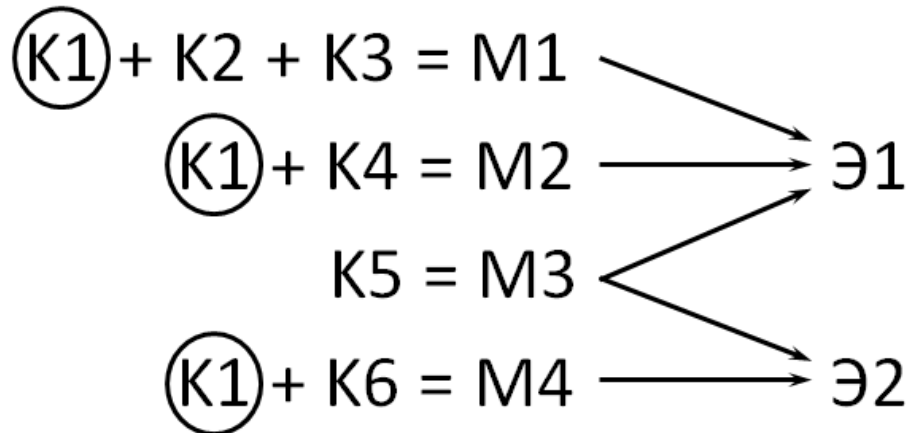
измерении апикальных точек (конечных эффектов на здоровье, таких как частота возникновения опухолей или задержки развития), в гомогенных животных моделях, часто с ограниченными экспозициями и скудной эпидемиологической информацией.

Хотя сегодняшние оценки рисков, как правило, поддерживают те же типы решений, что и в 1983 году, инструменты, доступные для постановки вопросов и поиска ответов, существенно изменились. Как указано в главах 2-4 настоящего доклада, современные методы оценки экспозиции, токсикологии и эпидемиологии увеличили как скорость сбора информации, так и объем получаемых данных. Фокус наблюдений сместился от апикальных точек к пониманию биологических процессов или путей, которые приводят к апикальным реакциям или болезни. Новые методы, предназначенные для измерения и исследования молекулярных изменений, дают представление о биологических путях. Таким образом, создается «фактологическая база», которая описывает все более ранние этапы изменений, приводящих, в конечном итоге, к тем негативным последствиям для здоровья, которые федеральные агентства пытаются предотвратить или свести к минимуму.

В докладе Tox21 (NRC 2007) было определено новое направление для оценки риска с акцентом на определение пути токсичности, которые были обозначены как «пути клеточного ответа, которые, когда они достаточно нарушены у здорового организма, могут привести к негативным последствиям для здоровья». После публикации этого отчета понимание биологических процессов, лежащих в основе болезни, резко возросло и дало возможность понять как различные стрессоры окружающей среды могут влиять на один и тот же путь, каждый из которых потенциально способствует риску заболевания. Для практического применения новой стратегии оценки рисков, основанной на понимании механизмов действия токсических веществ, необходимо будет определить ключевые моменты в путях токсичности, но для начала ее применения не требуется знания всех путей. Например, субхронические экспозиции крыс могут приводить к угнетению жизненных функций, что проявляется в виде снижения веса и определенного количества летальных исходов в ходе экспериментов, но не указывают на орган-мишень в виде конкретного заболевания (развитие опухоли или задержки развития). Исследования молекулярных эффектов экспозиции могут указать, что вещество нарушает каскад окислительного фосфорилирования. В таком случае, эпидемиологические исследования могут затем сосредоточиться на биологических процессах, которые являются энергоемкими, например, поведение сердечной мышцы в состоянии стресса. Науку об

экспозиции можно использовать для измерения или оценки экспозиции стресс-факторами на население на любой территории и на протяжении любого отрезка времени и для сопоставления данных о токсичности с данными об экспозиции для использования в эпидемиологических исследованиях. Тесты для определения и описания химических веществ и выявления пертурбаций могут помочь охарактеризовать риски, вызванные аналогично действующими химическими веществами, а оценки экспозиции могут быть использованы для других химических веществ, предположительно вызывающих аналогичный ответ.

Сегодня признается многофакторный характера заболевания, иными словами, есть понимание того, что один негативный эффект на здоровье может быть результатом множества механизмов, которые, в свою очередь, могут иметь несколько компонентов. (см. дополнительную дискуссию в главе 7). Таким образом, вопрос ставится не о том, является ли А причиной В, но увеличивает ли А риск возникновения В. Рисунок 5-1 иллюстрирует эту концепцию, а вставка 5-1 представляет собой конкретный пример. На рисунке четыре механизма (М1-М4) и различные комбинации шести компонентов (К1-К6) участвуют в получении двух результатов или эффекта на здоровье (Э1 и Э2). Например, три компонента (К1, К2 и К3) задействованы в активирующем механизме М1, что приводит к результату Э1, а К1 является компонентом в нескольких механизмах. Здесь компонент определяется как биологический фактор, событие или условие, которое при наличии других компонентов вызывает заболевание или другой неблагоприятный исход; считается, что механизм состоит из одного или нескольких компонентов, которые вызывают заболевание или другие неблагоприятные последствия, в случае, если они происходят одновременно, а пути токсичности рассматриваются как компоненты механизмов. Модель может включать социальные факторы (в том числе и такие как бедность), которые вызывают склонность или индивидуальную восприимчивость, и это может в конечном итоге привести к клеточным ответам, активирующим различные механизмы. Например, в механизме М1 социальные факторы могут вызывать пертурбацию компонента К1, ту же самую, что вызывает рассматриваемое химическое вещество. В качестве альтернативы, социальные факторы могут нарушить компоненты К2 и К3 механизма М1, которые в сочетании с прямым воздействием химического вещества на компонент К1 могут полностью активировать механизм. Способность идентифицировать вклад различных компонентов данного механизма и понимать значимость изменений в отдельных компонентах механизма критически важна для принятия решений по оценке риска, основанных на науке XXI века.



**РИСУНОК 5-1** Многофакторная природа заболевания, проиллюстрированная с помощью 4 механизмов (*M*), 6 компонентов (*K*) и 2 эффектов на здоровье (*Э*)

В сложном контексте многофакторной природы заболеваний методы 21-го века позволяют реализовать новую стратегию оценки риска, признающую сложность детерминант риска. Новые методы позволяют идентифицировать многочисленные факторы болезни и лучше понять, как определенные механизмы, метаболические пути и компоненты способствуют заболеванию. Они могут быть использованы для зондирования конкретных химических веществ для выяснения их потенциала по нарушению путей токсичности или активированию важных биологических механизмов. Новые методы предоставляют важную информацию о том, как химическое вещество может способствовать развитию заболевания и как индивидуумы могут различаться в ответной реакции на экспозицию одним и тем же веществом. Таким образом, они могут дать представление о форме кривой зависимости доза-реакция населения и индивидуальной восприимчивости для перехода к характеристикам риска, предусмотренным в докладе «Наука и решения: повышение оценки рисков» (Science and Decisions: Advancing Risk Assessment, NRC 2009). Как отмечалось в докладе ННИС (NRC, 2007, 2009), с точки зрения подверженности ответной реакции на экспозицию, люди отличаются друг от друга наличием предрасполагающих факторов и сопутствующих экспозиций, поэтому степень, в которой какое-либо конкретное химическое вещество влияет на путь и способствует заболеванию, различается внутри популяции. Задача для оценки зависимости доза-реакция состоит в том, чтобы охарактеризовать степень чувствительности населения в целом и ее отдельных особо

чувствительных групп или, как минимум, ответить на вопрос, приводит ли экспозиция к повышению частоты/выраженности нарушений.

Несмотря на то, что вышеприведенное обсуждение сосредоточено главным образом на токсикологических и эпидемиологических аспектах новой стратегии, наука об экспозиции будет играть критическую роль в оценке токсикологических рисков. Благодаря новым технологическим достижениям данные об экспозиции, будут предоставлять необходимую и все более богатую информацию. Например, комплексные оценки экспозиции (скрининговое и целевое тестирование, анализ образцов окружающей среды, биомониторинг) помогут определить химические смеси, воздействию которых подвергаются люди. Такие комплексные оценки помогут оценить риски групп аналогично действующих химических веществ для отдельных эффектов на здоровье или исследовать химические воздействия, способные активировать многочисленные механизмы, способствующие конкретному заболеванию. Углубление нашего понимания фармакокинетики будет способствовать возможности переводить отношения между экспозицией и ответом, наблюдаемые в системах *in vitro*, на организм человека, характеризовать восприимчивые популяции и, в конечном счете, уменьшить ошибки в оценке риска. Персонализированная оценка экспозиции предоставит важную информацию об индивидуальной изменчивости в уровнях экспозиции, что дополнит данные о фармакодинамической вариабельности, оцениваемой в биологических тест-системах на основе путей токсичности. В конечном счете, эти и другие достижения науки о экспозиции в сочетании с достижениями в области токсикологии и эпидемиологии обеспечат еще более прочную основу для осуществления новой стратегии оценки риска.

## ПРИМЕНЕНИЯ

Полная реализация новой стратегии оценки рисков, описанной в отчете ННИС «Наука и решения», а также отчетах «Tox21 и ES21» (NRC 2007, 2009, 2012) пока не возможны, но данные, генерируемые сегодня, могут быть использованы для принятия более обоснованных решений. Как отмечалось в главе 1 (см. Вставку 1-3), решение ряда задач, связанных с оценкой риска, а именно: установление приоритетов тестирования, химическая оценка, оценка загрязненных территорий и оценка новых химических веществ, может быть более эффективной, если для их решения будут привлечены технологии 21 века. Методы и данные, необходимые для решения различных задач, вероятно, будут различаться, и выбор их будет в некоторой степени зависеть от контекста. Например,

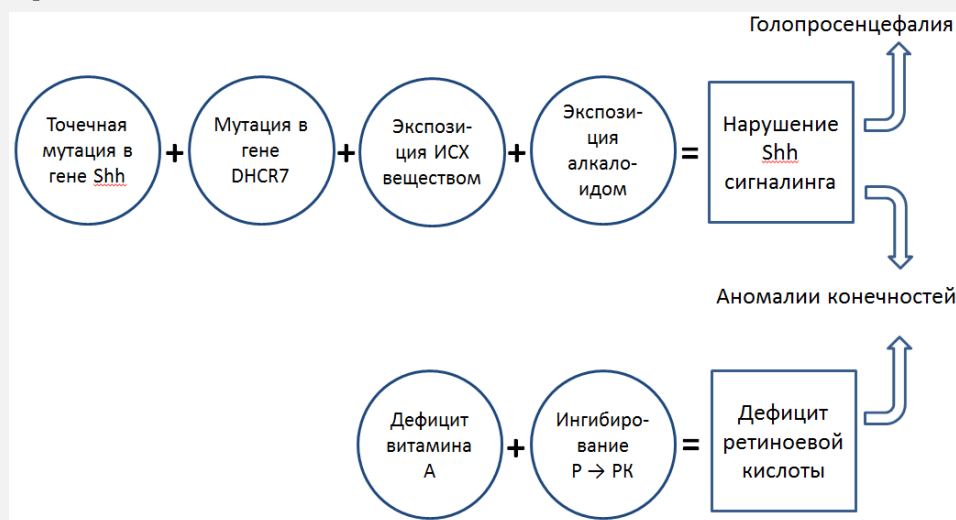
ученые имеют большой опыт использования лабораторных данных для подтверждения биологической достоверности в эпидемиологических исследованиях, и новые данные могут быть относительно легко применены в этом контексте. Напротив, методы, используемые для подтверждения окончательной оценки химического вещества, вероятно, нуждаются в серьезном анализе, а лицам, ответственным за их применение, необходимо будет научиться тому, как их использовать. В следующих разделах комитет описывает методы которые могут использоваться в конкретных ситуациях.

#### **ВСТАВКА 5-1** Пример многофакторной природы заболевания

Shh является сигнальным протеином, который синтезируется нотохордом и основанием нервной трубки эмбрионов млекопитающих. Его функция заключается в установлении средней линии спины, которая направляет развитие нервной системы. Нарушение сигналинга Shh во время эмбрионального развития приводит к нарушению - голопросэнцефалии - при которой не происходит формирование двух полушарий головного мозга. Множество различных событий (компонентов, в терминологии рисунка 5-1) могут нарушать функции Shh. Они включают точечные мутации в Shh, ведущие к частичной потере функции (Roessler et al. 1997); мутации гена 7-дегидрохолестерин редуктаза, который предотвращает пост-трансляционную модификацию Shh, при которой холестерин присоединяется к протеину (этап, необходимый для сигналинга - описанная мутация приводит к Смит-Лемли-Опиц синдрому) (Kolf-Clauw et al. 1997); некоторые растительные алкалоиды, такие как циклопамин, которые ингибируют пост-трансляционные изменения Shh (Incardona et al. 1998). Любой из этих компонентов при достаточно высокой дозе или выраженности может приводить к голопросэнцефалии, но, вероятно, существуют ситуации, при которых дозы/выраженности одного компонента недостаточно для нарушения Shh сигналинга, хотя при добавлении друг к другу компоненты могут нарушать развитие.

В этом примере все компоненты воздействуют на одну и то же цель, Shh, но по-разному: одни нарушают структуру протеина (точечные мутации гена), другие нарушают пост-трансляционную модификацию, а третьи нарушают его способность взаимодействовать с его рецептором. Вне зависимости от этой специфики, результат всегда одинаков: сигналинг Shh оказывается недостаточным для дифференциации вентрального поля. Нарушение Shh сигналинга представляет собой "механизм" на рисунке 5-1.

Shh также экспрессируется в других тканях эмбриона и отвечает за развитие конечностей и зубов. Аномалии развития конечностей, такие как дополнительные пальцы или сросшиеся пальцы, часто наблюдаются у пациентов со Смит-Лемли-Опиц синдромом. На рисунке 5-1 этот синдром соответствует второму эффекту того же механизма. Как показано на рисунке 5-1, тот же эффект может быть результатом другого механизма. Например, ретиноевая кислота также влияет на развитие конечностей, и ее избыток или недостаток может приводить к дефектам развития конечностей. Это соответствует отдельному механизму, включающему иные компоненты (например, дефицит витамина А или ингибирование энзима, который превращает ретинол в ретиноевую кислоту), но будет приводить к сходным негативным эффектам (дефекты пальцев). Рисунок ниже иллюстрирует этот пример в терминах рисунка 5-1. Сокращения: ИСХ - ингибитор синтеза холестерина; DHCR7 - 7-дегидрохолестерин редуктаза; Р - ретинол; РК - ретиноевая кислота.



### Установление приоритетов

Только в США десятки тысяч химических веществ являются коммерческими продуктами (Muir and Howard 2006; Egeghy et al., 2012). Они присутствуют в различных изделиях, в том числе в строительных материалах, потребительских товарах и ремесленных принадлежностях и могут оказывать воздействие как посредством использования самой продукции, так и за счет выбросов в окружающую среду в момент производства или



утилизации. Несмотря на то, что количество химических веществ в окружающей среде велико, количество химических веществ, для которых имеются полные данные о токсичности, экспозиции и эпидемиологические данные остается небольшим. Учитывая конечные ресурсы государственных учреждений и других заинтересованных сторон для исследования рисков, связанных с экспозицией химическими веществами, с последующим принятием решений об ограничении использования, замены или полного удаления, определение приоритетов для оценки токсичности химических веществ и определение подходящих стратегий по управлению рисками являются существенными. Некоторые категории химических веществ, которые, как предполагается, обладают биологической активностью, такие как лекарственные средства и пестициды, обычно подвергаются серии тестов на токсичность, как того требует закон. Тем не менее, для большинства химических веществ не требуется проведение тщательного тестирования токсичности, и необходимость тестирования определяется схемами установления приоритетов. Например, Национальная программа по токсикологии (NTP 2016) устанавливает приоритеты тестирования на основе степени воздействия на человека, подозрения в токсичности или необходимости получения информации для заполнения пробелов в данных. Требования Комиссии Европейского союза по регистрации, оценке и требованиям к авторизации химических веществ (European Union's Registration, Evaluation, and Authorization of Chemicals, REACH) основаны преимущественно на объеме производства (количество химикатов, производимое в год), а также на возможности широкого распространения или использования человеком, как это происходит с потребительскими товарами (NRC 2006; Rudén and Hansson 2010). Соображения о потенциальной токсичности, как правило, ограничивались предположениями, основанными на наличии конкретных химических характеристик, таких как реакционноспособный эпоксидный фрагмент или сходство с известными сильнодействующими токсикантами. Использование только этих соображений для установления приоритетов явно является недостаточным. Дополнительная информация об опасностях необходима для улучшения процесса установления приоритетов, она должна охватывать больший объем биологической информации и информации об экспозиции, включая более подробные оценки экспозиции из нескольких источников и путей токсичности.

Поскольку методы современной токсикологии, такие как высокопроизводительный скрининг, токсикогеномика<sup>1</sup> и хемоинформатика (молекулярная информатика), стали на

---

<sup>1</sup> Под токсикогеномикой понимается транскриптомный анализ ответных реакций на экспозицию.

сегодняшний день более доступными, определение приоритетов тестирования является первым шагом к осуществлению новой стратегии. Тестовые платформы с высокой пропускной способностью, такие как программа ToxCast Агентства по охране окружающей среды США (EPA), описанная в главе 1, уже предоставили данные по тысячам химических веществ. Токсикогеномные анализы потенциально могут увеличить биологический охват клеточных тестов *in vitro* и стать источником данных для установления приоритетов тестирования. Например, используя наборы человеческих клеток и вещества с известными механизмами токсичности, можно попытаться понять, возможно ли идентифицировать нарушенные биологические пути на основе изменений экспрессии отдельных генов (Lamb et al., 2006) или целого транскриптома (de Abrew et al., 2016). Несоответствия между результатами *in vitro* и *in vivo* могут возникать по нескольким причинам, одна из них - отсутствие метаболизма в анализах *in vitro*. Как обсуждалось в главе 3, недостаток или низкий уровень метаболической активности химического вещества признается как потенциальная проблема в исследованиях *in vitro*, и в настоящий момент ведется активная разработка методов введения метаболических систем в клеточные тесты, которые могут быть запущены в высокопроизводительном формате.

Хемоинформатические подходы могут также использоваться для определения приоритетов химического тестирования путем оценки ряда химических веществ на присутствие химических свойств, связанных с токсичностью - например, с помощью таких проприетарных методов, как DEREK,<sup>2</sup> или с помощью деревьев решений, которые оценивают, имеются ли прецеденты в литературе, указывающие на специфические химические свойства, связанные с конкретным результатом токсичности, такие, например, как токсичность для развития (Wu et al., 2013). Эти методы были автоматизированы и позволяют быстро идентифицировать химические вещества, имеющие определенные химические свойства, которые были определены как потенциально проблематичные, такие как наличие реактивных функциональных групп, или которые имеют достаточно высокое сходство с химическими веществами, являющимися сильными токсикантами, такими как стероидо-подобные вещества (Wu et al., 2013).

Было разработано несколько новых методов с высокой пропускной способностью - например, ExpoCast (Wambaugh et al., 2013) или ExpoDat (Shin et al., 2015) - для количественной оценки экспозиции и определения на ее основе приоритетов

---

<sup>2</sup> См. <http://www.lhasalimited.org/>.

тестирования и оценки риска. Новые технологии могут оценивать экспозицию более точно, чем предыдущие более простые модели, за счет принятия во внимание химических свойств, количества произведенного химического вещества и масштабов его использования, поведения человека (вероятности экспозиции), возможных путей экспозиции и возможных уровней поступления химических веществ. Информация, полученная с помощью тестов с высокой пропускной способностью, может использоваться для уточнения схем установления приоритетов.

В зависимости от контекста информация об экспозиции и опасностях может использоваться различными способами в целях определения приоритетов тестирования. Например, скрининг, основанный только на опасности, может быть особенно полезен в ситуациях, например, связанных с изменениями в составе продукта, о котором отсутствует информация об экспозиции, и существует предположение, что данный продукт будет использоваться таким же образом, с тем же уровнем экспозиции. Также, для определения приоритетов на основе риска были предложены методы, использующие комбинацию информации об экспозиции и опасности, в которых определяется самый высокий уровень экспозиции и самая низкая концентрация, вызывающая эффект, а также рассчитываются пределы экспозиции (разница между токсичностью и величинами экспозиции, см. Рис. 5-2). Кроме того, было предложено уточнить пределы экспозиции с использованием обратных фармакокинетических методов для оценки экспозиции (Wetmore et al., 2013). Предполагается, что доверие к этому методу будет возрастать по мере все более широкого охвата биологических реакций в тестах *in vitro*; внедрению нововведений, способствующих повышению метаболической активности; применению методов, учитывающих токсичность, связанную с определенным путем экспозиции (например, при ингаляции), и появлению улучшенных вычислительных моделей экспозиции для прогнозирования возможных эффектов на здоровье человека и экосистему.

### **Химическая оценка**

Химические оценки охватывают широкий спектр тестов, от Информационной системы комплексных оценок риска (Integrated Risk Information System), которая включает оценки опасности и зависимость доза-реакция, до тех, которые также включают оценки экспозиции для характеристики риска. Кроме того, химические оценки, проводимые федеральными агентствами, охватывают химические вещества, в отношении которых имеется недостаточное количество данных для принятия решений (data-poor chemicals), и

химические вещества, для которых имеется обширная база данных для принятия решений (data-rich chemicals). В следующих разделах рассматривается, как современные базы данных могут использоваться в контрастных (противоположных) ситуациях.

### **Оценка химических веществ при недостаточной базе данных**

Оценка химических веществ с недостаточной базой данных может начинаться с оценки эффектов на здоровье, для которых известны механизмы действия. Например, механизмы некоторых эффектов токсичности, такие как генотоксичность и сенсибилизация кожи, достаточно хорошо известны для того, чтобы можно было опираться на механистически основанные анализы *in vitro* - например, анализ Эймса и прямой анализ реактивности пептидов - для которых Организация экономического сотрудничества и развития уже разработала рекомендации и руководства к действию; они могли бы служить отправной точкой для оценки опасности. Для таких четко определенных эффектов, для которых анализы *in vitro* являются достаточными для составления характеристики химического вещества, процесс оценки опасности является относительно простым. Вместо использования базы данных об экспериментах на животных моделях в качестве отправной точки для установления опасности, можно заменить эти данные данными, полученными в результате применения альтернативного метода. В большинстве случаев выводы отражают качественные характеристики и являются бинарными - например, химическое вещество является или не является генотоксикантом. В настоящий момент предпринимаются усилия по предоставлению количественной информации с помощью тестов *in vitro* для описания зависимости доза-реакция и, в конечном итоге, для расчета эталонных показателей здоровья, таких как эталонная доза или контрольная концентрация (см. Рис. 5-3). В подходе, который использует данные полученные в тестах на животных, и в подходе, который основан на результатах *in vitro*, для учета индивидуальных различий в реакции человека и учета ошибок, связанных с экстраполяцией результатов от тестовой системы к организму человека, обычно включаются факторы неопределенности (uncertainty factors, или UF). Альтернативно, модель может быть использована для экстраполяции результатов в низкие дозы. Во вставке 5-2 содержится дальнейшее обсуждение неопределенности, изменчивости, UF и экстраполяции.

Большинство токсических эффектов затрагивают множество путей, посредством которых химические вещества могут оказывать неблагоприятное воздействие. Для многих

эффектов, таких как органная токсичность и токсичность на ранних этапах развития, все еще не все пути токсичности детерминированы. Для таких эффектов простая замена экспериментов на животных моделях *in vitro* тестами может оказаться невозможной. Другим возможным подходом к оценке химических веществ является использование данных о токсичности для ранее проверенных химикатов, которые по своей структуре сходны с представляющим интерес химическим веществом (см. Рис. 5-4). Аналоги выбирают на основе сходства в химической структуре, физической химии и биологической активности в анализах *in vitro*. Сравнение аналогов с представляющим интерес химическим веществом основано на предположении, что представляющий интерес химикат и его аналоги метаболизируются в биологически сходные метаболиты или что они достаточно сходны по структуре и имеют одинаковую или сходную биологическую активность (например, они аналогичным образом активируют рецепторы). Сходство подтверждает вывод о том, что химическое вещество будет вызывать тот же тип опасности, что и аналоги, хотя и не обязательно в одинаковых дозах.

Метод, описанный на Рис. 5-4, зависит от наличия всеобъемлющей базы данных о токсичности, где поиск информации можно осуществлять с помощью курируемой и аннотированной химической структуры (такой как ACToR или DSSTox), и последовательного процесса принятия решения о выборе подходящих аналогов. Вю и коллеги (Wu et al. 2010) опубликовали набор правил для идентификации аналогов и классификации их как подходящих, подходящих с интерпретацией, подходящих с предварительным условием (например, метаболизм) или непригодных для аналоговой оценки; эти правила принимают во внимание физическую химию, потенциальную химическую реактивность и потенциальный метаболизм химического вещества.

Во многих случаях близкое сходство, основанное на сопоставлении «атом-за-атомом», достаточно для того, чтобы классифицировать два или более химических веществ в качестве подходящих аналогов друг для друга. Однако совпадение атом-за-атомом не в каждом случае является достаточным. Небольшие различия могут иногда изменять химическую активность таким образом, что один метаболический путь становится предпочтительнее другого или изменяется химическая реактивность с различными биологическими молекулами. На практике аналог-ориентированная оценка может значительно облегчаться на основе экспертных правил, основанных на соображениях молекулярного сходства. Этот подход был опробован в тематическом исследовании, в котором использовался «слепой» подход и было установлено, что он достаточно надежный

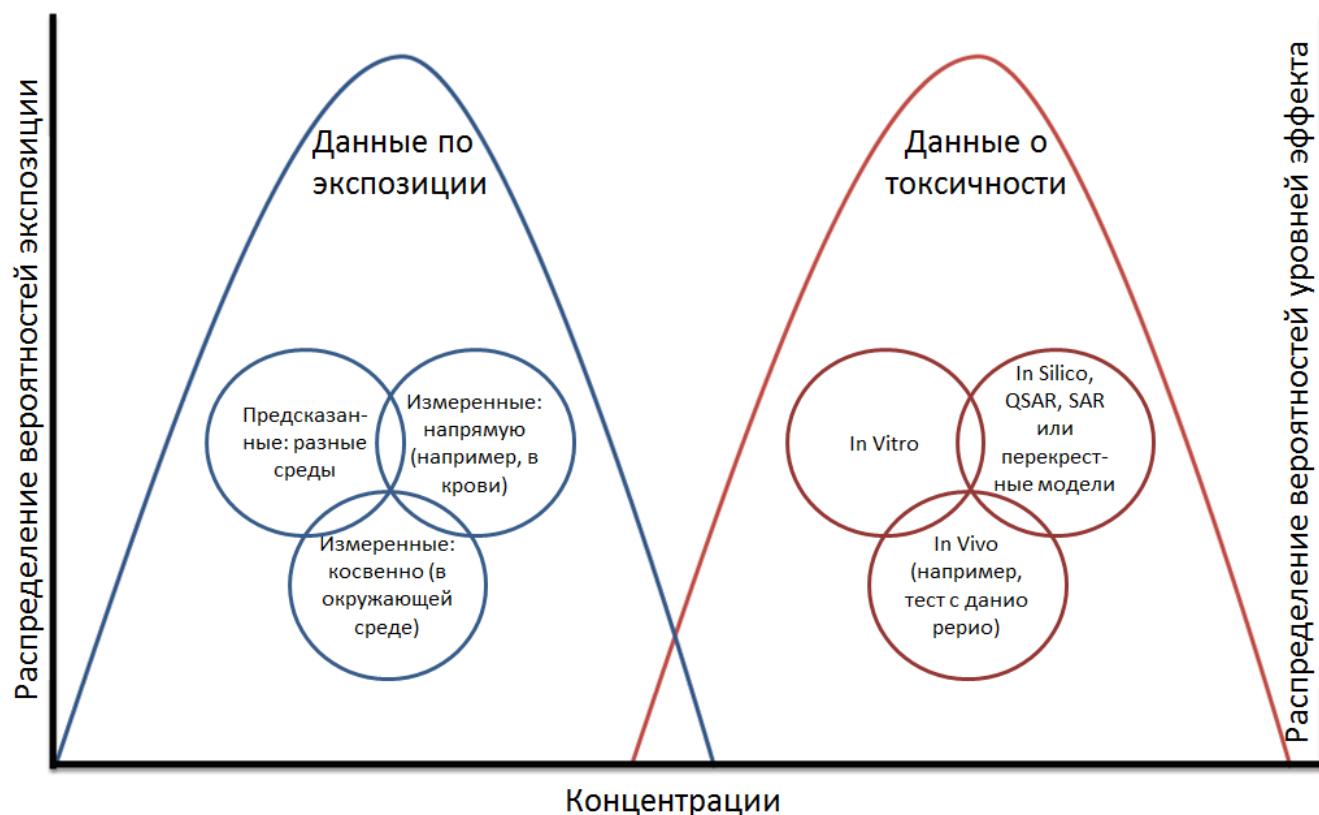
(Blackburn et al., 2011). Учитывая, что общий объем данных о токсичности для традиционных животных моделей является большим (миллионы записей в ACToR и, вероятно, десятки тысяч записей для каждого результата токсичности), аналоговый подход может быть весьма полезным. Аналогичные подходы разрабатываются и используются для перекрестной оценки химических веществ, представленных в соответствии с европейским регламентом REACH.

Задача оценки такого параметра как структура-активность может рассматриваться как проверяемая гипотеза, которую можно решить с помощью различных методов (см. гл. 3). Сравнение метаболизма можно проводить с использованием установленных методов для проверки метаболизма ксенобиотиков *in vivo* и *in vitro*, при этом принимая во внимание, что метаболизм может быть сложным даже для таких простых молекул как бензол (McNale et al., 2012). Тестирование на аналогичную биологическую активность должно основываться на том, что известно в отношении путей, посредством которых химические вещества данного класса оказывают токсичность. В случае, если механизмы токсичности неизвестны, можно просмотреть некоторые (например, с помощью анализа ToxCast) или все (например, с помощью глобального анализа экспрессии генов) из возможных путей, на которые влияет химическое вещество, чтобы определить степень сопоставимости биологической активности представляющего интерес химического вещества и его аналогов. Было обнаружено, что токсикогеномные анализы могут быть использованы для идентификации механизма токсичности как в моделях *in vivo*, так и *in vitro* (см., Например, Daston and Naciff 2010). Благодаря доступным сейчас недорогим методам появились большие массивы данных по экспрессии генов для малых молекул (например, National Institutes of Health's Library of Network-based Cellular Signatures, или LINCS), и эти данные помогают определить степень, до которых химические вещества сходной структуры являются достаточно сопоставимыми для перекрестного анализа (Liu et al., 2015).

Сочетание хеминформатических и высокоскоростных лабораторных методов позволяет перейти к суррогатной отправной точке для оценки риска, использующей аналоговые данные. Затем суррогат может быть скорректирован для фармакокинетических различий и биологической активности (см. Рисунок 5-5). Комитет изучил этот подход в тематическом исследовании по алкилфенолам (см. Вставку 5-3 и Приложение В).

В конечном счете, возможно проведение аналогичных оценок химических веществ без адекватных аналоговых данных. Молекулярная информатика и лабораторные методы

могут быть использованы для создания гипотез о возможных действиях нового химического вещества, и гипотезы могут быть протестированы в виртуальных моделях биологических систем и проверены в моделях высших порядков *in vitro*. Как обсуждалось в главе 3, вычислительные модели, такие как модель на основе клеточного агента, использовавшаяся в проекте АООС virtual-embryo позволили составить прогноз по воздействию мощных антиангиогенных химических веществ на развитие кровеносных сосудов эмбриона с использованием скоростного скрининга данных и информации о ключевых генах в ангиогенном пути в качестве исходных точек для разработки модели (Kleinstreuer et al., 2013). Модель может запускаться тысячи раз - виртуальный эквивалент тысяч экспериментов - и корректироваться на основании полученных результатов.



**РИСУНОК 5-2** Скрининговое тестирование может использоваться для оценки токсичности или прогнозирования экспозиции для ранжирования химических веществ для дальнейшего тестирования или оценки. Наибольший приоритет будет отдан химическим веществам, имеющим наименьшие пределы экспозиции (то есть, верхние границы экспозиции, наиболее близкие или перекрывающиеся с концентрациями вызывающими токсичность).

Результаты моделирования были проверены в тестах на сосудистую дегенерацию *in vitro* и на данио рерио (Tal et al., 2014), и было установлено, что модель является хорошим предиктором токсических эффектов. Подход, основанный на вычислительных моделях, очевидно, зависит от глубокого понимания биологии, лежащей в основе конкретного процесса, и того, как она может быть нарушена, а также от сложных лабораторных моделей, которые будут способствовать разработке виртуальной модели. Этот подход потребует знания ключевых моментов, связывающих начальное взаимодействие экзогенного химиката с его молекулярной мишенью и конечным неблагоприятным результатом.

Независимо от того, проводится ли оценка риска с использованием подходов, показанных на рисунках 5-4 и 5-5, или с помощью только что описанного подхода, всегда будут обстоятельства, при которых необходимо будет максимально уменьшить риск появления ошибок и неточностей для принятия адекватных решений. Такая ситуация может возникнуть из-за того, что пределы экспозиции слишком малы, или возможные механизмы еще недостаточно изучены, или количественная взаимосвязь между эффектами, измеренными на молекулярном или клеточном уровне, и негативным эффектом была определена неадекватно. В таких случаях можно использовать более сложные модели - например, данио рерио или целевое тестирование на грызунах.

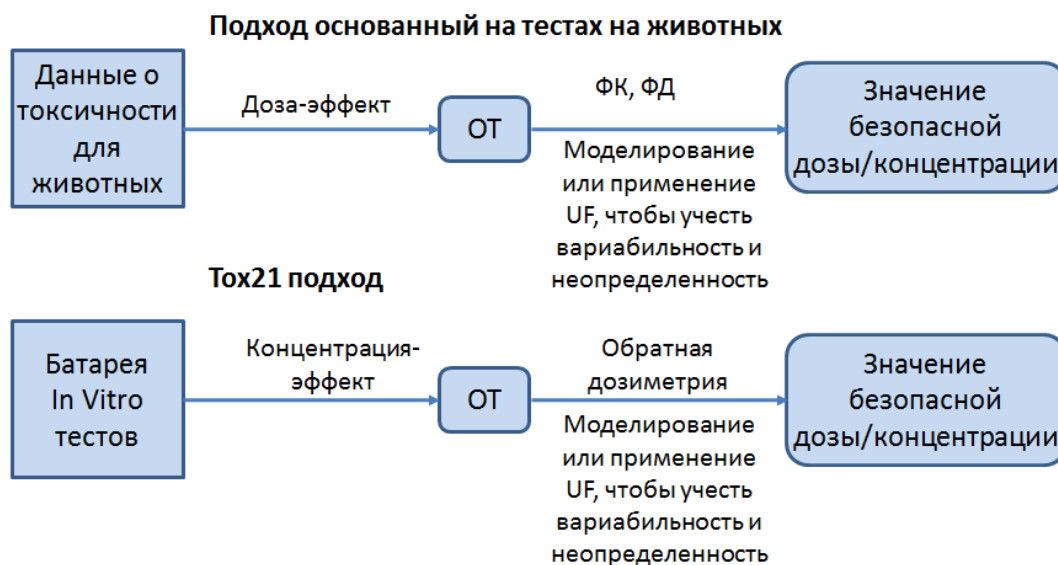
### **Оценка химических веществ при наличии достаточно полной базы данных**

Для некоторых химических веществ существует достаточное количество информации, что не оставляет сомнений относительно причинно-следственной связи между экспозицией и эффектом; идентификация опасности в таком случае не является проблемой для принятия адекватных решений. Тем не менее, могут оставаться нерешенными вопросы, имеющие отношение к принятию нормативных решений, такие как вопросы, касающиеся экспозиции малыми дозами, воздействие на восприимчивые группы населения, возможные механизмы наблюдаемых эффектов и новых эффектов на здоровье, связанных с экспозицией. Научно-технические достижения, описанные в главах 2-4, могут продвинуть наши знания в этих областях. Пример того, как наука 21 века может использоваться для решения различных вопросов приводится во Вставке 5-4 и приложении В.



## Совокупная оценка риска

Предполагается, что совокупная оценка риска существенно выиграет от использования постоянно генерируемых новых механистических данных. Хорошо известно, что каждый человек подвергается экспозиции несколькими химическими веществами одновременно в окружающей среде: через воздух, которым мы дышим, продукты, которые мы едим, и продукты, которые мы используем. Тем не менее, оценка риска по-прежнему проводится в основном для отдельных химических веществ, даже если химические вещества, имеющие аналогичный механизм воздействия на организм и вызывающие аналогичные эффекты на здоровье, рассматриваются как представляющие совокупный риск при условии одновременной экспозиции (EPA 2000; NRC 2008). И, если, совокупная оценка риска канцерогенов еще проводится в учреждениях, то совокупная оценка риска некарциногенов встречается довольно редко. Одним из примеров совокупной оценки является оценка риска экспозиции фосфорорганическими пестицидами, механизм действия которых известен как приводящий к ингибированию ацетилхолинэстеразы.



**РИСУНОК 5-3** Сравнение подхода, основанного на тестировании животных, для получения эталонных значений по сравнению с разрабатываемым подходом, в котором используются батареи *in vitro*, где биологический путь для конкретного эффекта на здоровье был выяснен. Факторы неопределенности (или модели) для этих подходов будут отличаться, но, тем не менее, используются в обоих случаях для учета индивидуальной изменчивости или для экстраполяции разных доз. Сокращения: ФД - фармакодинамика; ФК - фармакокинетика; ОТ - отправная точка; UF - коэффициент неопределенности.

Тестирующие системы, оценивающие более фундаментальные уровни биологической организации (эффекты на клеточном или молекулярном уровне), могут быть полезны для идентификации химических веществ, действующих через общий механизм и для упрощения оценки риска смесей. Полная идентификация путей токсичности химических веществ (от молекулярных инициирующих событий до появления заболеваний на уровне индивидуума или целой популяции) также может быть полезна при определении химических веществ, приводящих к одинаковым неблагоприятным последствиям для здоровья с помощью разных молекулярных механизмов. Высокопроизводительные скрининговые системы и глобальный анализ экспрессии генов являются примерами технологий, позволяющих получать такую информацию. Методы, используемые для анализа совокупной оценки риска также будут пригодны для многофакторной оценки рисков, рассматриваемых далее в главе 7.

#### **ВСТАВКА 5-2** Неопределенности и изменчивость в оценке риска

Оценка риска предполагает оценку риска, связанного с конкретной экспозицией, и характеристику присущих оценке риска неопределенностей. Для оценок риска для человека, основанных на данных о животных, неопределенности включают в себя те, которые связаны с возможными различиями видов (между лабораторными животными и людьми) в фармакокинетике и чувствительности, изменчивости популяции человека и экстраполяции эффектов экспозиции на протяжении всей жизни на основе краткосрочных экспериментов. Несмотря на то, в каждом отдельном случае масштабы неопределенности можно оценить экспериментально (при наличии достаточных ресурсов и времени), как правило, коэффициентам неопределенности (UF), присваивают конкретные значения (обычно 1, 3 или 10) для получения оценки токсичности или риска. Использование науки 21 века потребует нового осмысления подхода к учету неопределенностей, связанных с оценкой риска и их величиной. Некоторые неопределенности будут устранены: например, использование человеческих клеток и рецепторов, устранят необходимость учета межвидовых различий в фармакодинамической чувствительности. Однако, использование подхода *in vitro* создаст другие сложности, такие как определение соотношения концентрации химического вещества *in vitro* с экспозицией в организме человека или количественные отношения ответной реакции на молекулярном уровне с конечным негативным эффектом на здоровье. Количественные методы объединения информации из

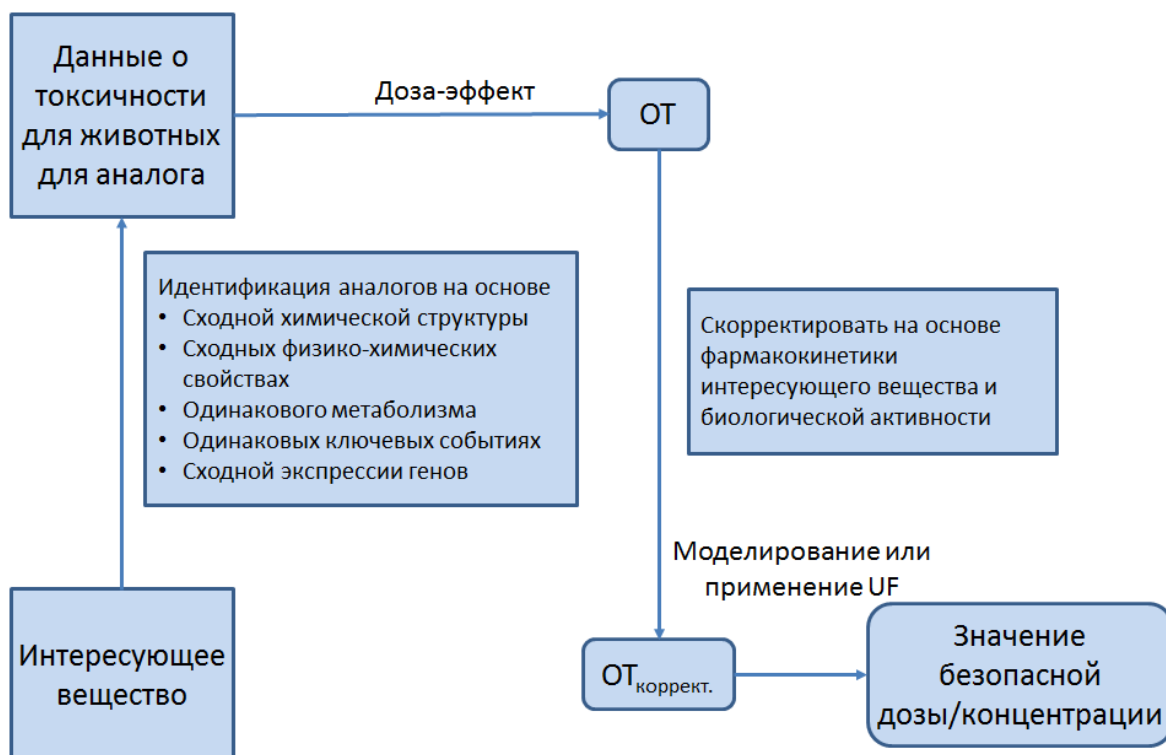
нескольких анализов или потоков данных в интегрированные стратегии тестирования (см., Например, Jaworska et al., 2013; Rovida et al., 2015) были использованы для представления ключевых этапов развития болезней для преодоления неопределенностей, связанных с использованием реакции на молекулярном уровне.

Возможно также использование биологического моделирования доза-реакция или другого эмпирического моделирования для замены для экстраполяции, основанных на UF. Это согласуется с рекомендацией CPN (2009 г.) о том, что моделирование доза-реакция должно основываться на «формализованной, систематической оценке фоновых болезней, возможных уязвимых групп населения и способах действия». Для оценки зависимости доза-ответ для пути токсичности, который включает в себя повреждение и восстановление ДНК было использовано моделирование (Bhattacharya et al., 2011), позволяющее в будущем учесть гетерогенность этого механизма в человеческих популяциях. Другим подходом к оценке межиндивидуальной изменчивости является крупномасштабное *in vitro* профилирование множества клеточных линий человека (Abdo et al., 2015a, b, Eduati et al., 2015), хотя этот подход затрагивает только генетическую изменчивость, которая, как предполагается, вносит лишь незначительный вклад в изменчивость. Диапазон изменчивости населения в экспозиции и реакции на экспозицию плохо изучен, но новые технологии должны улучшить нашу способность количественно определять некоторые неопределенности, в том числе человеческую гетерогенность в уязвимости к экспозициям. Характеристика новых неопределенностей и оценка их величины будут важны, поскольку новые подходы будут интегрированы в оценку рисков.

### **Оценка загрязнения территории**

Понимание рисков, связанных с утечкой химических веществ или определение мер по восстановлению мест захоронения опасных отходов зависит от понимания величин экспозиции различными химическими веществами и их токсичности. Проблема оценки состоит из трех элементов: выявление и количественное определение химических веществ, присутствующих на площадке, характеристика их токсичности и характеристика токсичности химической смеси. Таким образом, можно рассматривать эту ситуацию как иницированную экспозицией оценку рисков, в которой информация об экспозиции является исходной точкой, как показано на рисунке 5-6. В этом контексте информация об

экспозиции означает сбор информации о вновь выявленных химических веществах и составление более полной характеристики экспозиции химическими веществами, идентифицированными ранее на объекте. В рамке 5-5 приводятся два конкретных примера оценок риска, инициированных экспозицией.



**РИСУНОК 5-4** Подход к определению контрольных значений здоровья при наличии данных по сходным по структуре химическим веществам. Сходство может быть основано на таких характеристиках, как химическая структура, физико-химические свойства, метаболизм, ключевые события в биологических путях или экспрессия генов; сходство нескольких характеристик повышает достоверность аналогии. Отправная точка (point of departure POD) соответствующего аналога должна быть скорректирована на основе фармакокинетических различий между представляющим интерес химическим веществом и аналогом и другими важными биологическими факторами, такими как активация рецептора; затем должны быть использованы подходящие модели или применены факторы неопределенности. Учет неопределенности может включать в себя определение достоверности с помощью перекрестного подхода, включая число идентифицированных аналогов, степень сходства аналогов с представляющим интерес химическим веществом и объем набора данных, имеющихся для аналоговых веществ.

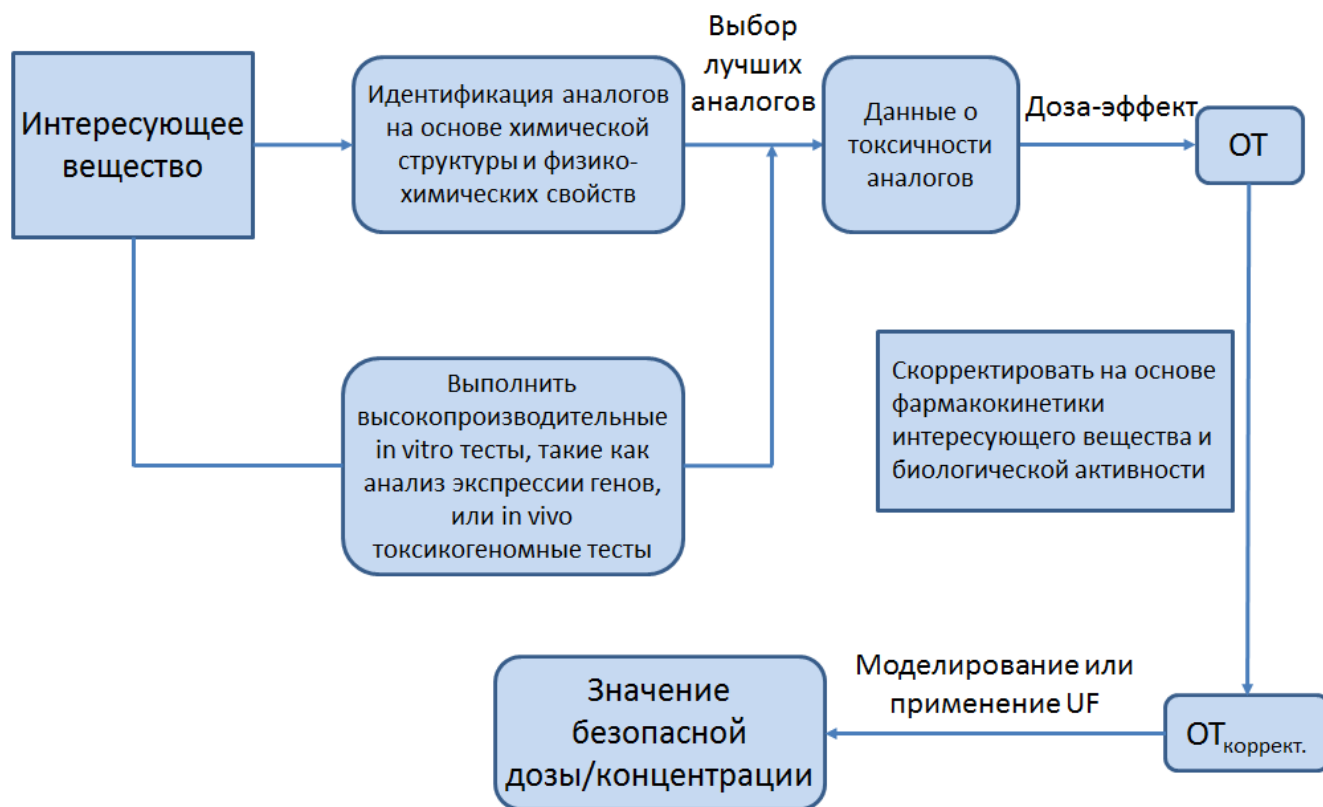
Достижения, описанные в главах 2-4, могут затрагивать каждый элемент, участвующий в оценке местности. Целевые методы аналитической химии, особенно те, которые используют газовую или высокоэффективную жидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией, могут идентифицировать и дать качественную оценку химическим веществам, для которых установлены определенные стандарты. Нецелевые методы могут помочь предварительно определить свойства ранее не тестированных химических веществ. Комитет иллюстрирует применение достижений науки об экспозиции на примере крупного исторически загрязненного участка (см. Вставку 5-6 и Приложение С).

### **ВСТАВКА 5-3** Иллюстративный пример: алкилфенол

Этот пример иллюстрирует использование перекрестного моделирования для определения безопасных доз. Как подробно описано в приложении В, алкилфенол (п-додецилфенол), в отношении которого имеется недостаточно данных о токсичности, сравнивается с двумя другими алкилфенолами (п-октилфенолом и п-нонилфенолом), относительно которых имеется достаточно информации о токсичности. Сопоставления производятся на основе двумерной химической структуры и физико-химических свойств. Высокая пропускная способность данных *in vitro* от ToxCast используется для увеличения точности выбора аналогов. Данные исследований нескольких поколений крыс *in vivo* с использованием алкилфенолов, по которым имеется хорошая база данных, используются в качестве отправной точки для получения безопасной дозы, а корректировки предлагаются на основе данных ToxCast. Ограничения, которые имеет данный подход были обсуждены, а также было определено какую информацию следует добавить для повышения достоверности данных.

Оценка территорий, загрязненных отходами, как и оценка выбросов химических веществ часто связаны с химическими веществами, в отношении которых имеется мало данных о токсичности. В случае мест хранения отходов Агентство по охране окружающей среды присваивает предварительные контрольные значения ряду химикатов, используя предварительный процесс оценки токсичности (Provisional Peer Reviewed Toxicity Value, или PPRTV). Однако из-за количества или качества доступных данных значения PPRTV, как правило, имеют серьезные погрешности. Аналоговые методы, в сочетании с методами скоростного скрининга, могут улучшить качество PPRTV. Идентификация тщательно протестированных аналогов нового вещества на загрязненной, подлежащей очистке территории может дать более точные оценки опасности химического вещества;

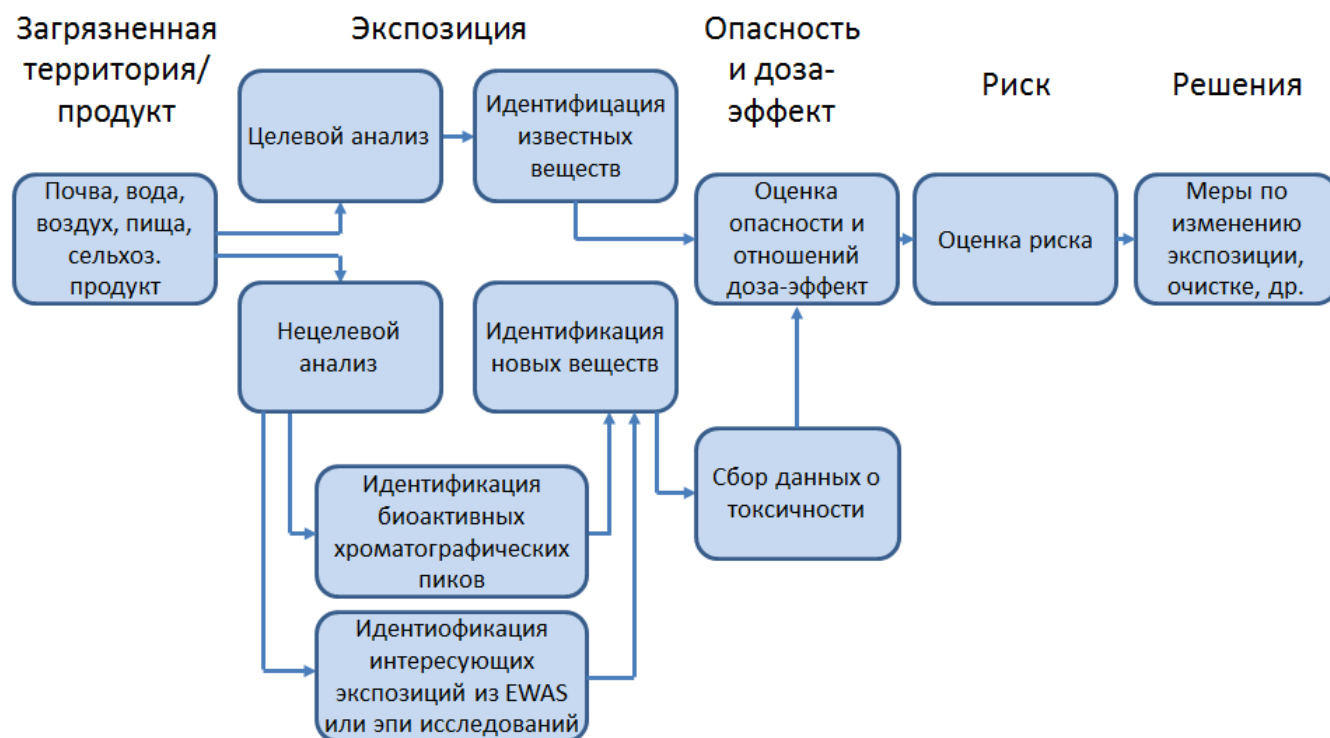
правомерность выбора аналогов может быть подтверждена с помощью высокопроизводительного скрининга или данных с высоким содержанием, показывающих сопоставимость биологических мишеней или других апикальных точек и относительную активность химического вещества. Несмотря на то, что тестовые системы с высокой пропускной способностью или с высоким содержанием все еще нуждаются в проверке, подход, основанный на перекрестном сравнительном анализе, уже готов к применению.



**РИСУНОК 5-5** Подход к определению безопасных доз в случае, когда невозможно определить вещества-аналоги только лишь на основе сравнения структуры и физико-химических свойств. В этом случае интересующее вещество может быть протестировано на высокопроизводительных тестовых системах и полученные данные могут быть дополнительно использованы для идентификации лучших аналогов, которые впоследствии будут использованы для определения безопасных доз.

В случае выброса химических веществ, также как и в случае загрязненных территорий, недостаток данных по токсичности химических веществ, представляющих опасность, является серьезной проблемой, но, в отличие от ситуации с загрязненными территориями,

в данном случае решение необходимо будет принимать быстро. Вставка 5-6 и приложение С описывает сценарий выброса и возможные приложения методов Tox21 для быстрого предоставления данных по недостаточно изученному на предмет токсичности химическому веществу.



**РИСУНОК 5-6** Общий обзор подхода и решений для оценки экспозиции. Сокращения: эпи - эпидемиологические; EWAS - исследование ассоциаций со всем экспозомом.

Что касается понимания токсичности химических смесей, тестовые системы с высокой пропускной способностью помогают ответить на вопросы могут ли какие-либо компоненты смеси действовать через общий механизм, воздействовать на один и тот же орган или вызывать одни и те же конечные эффекты на здоровье и, следовательно, должны ли они рассматриваться как представляющие собой совокупный риск (EPA 2000; NRC 2008). Методы с высокой пропускной способностью могут также использоваться для оценки токсичности смесей, которые присутствуют в конкретном месте, а не для оценки каждого вещества по отдельности. Такое генерирование данных об опасных свойствах в реальном времени проводилось для диспергирующих агентов, которые использовались для обработки сырой нефти, разлившейся во время катастрофы Deepwater Horizon (Judson

et al., 2010), чтобы определить, обладают ли некоторые из них большей эндокринной активностью или цитотоксичностью, чем другие. Эндокринные анализы были в центре внимания из-за известной эстрогенной активности нонилфенола (продукт разложения оксиэтилированного нонилфенола).

Данные, полученные с помощью тестовых систем с высокой пропускной способностью можно использовать в качестве основы для перекрестного биологического анализа сложных смесей. Например, смесь, по которой отсутствует информация о токсичности, может быть протестирована вышеуказанными методами скоростного скрининга, и полученные результаты можно сравнить с существующими результатами для отдельных химических веществ или хорошо охарактеризованных смесей. Этот процесс аналогичен подходу картирования связей (Lamb et al., 2006), в котором биологическая активность одного химического вещества сравнивается с соответствующей информацией о других химических веществах в больших базах данных и предполагается, что химические вещества с аналогичной биологической активностью имеют сходный механизм действия. Такой подход, используемый для отдельных химических веществ, может быть использован и для неохарактеризованных смесей. Одно остается по-прежнему неизвестным, вызывается ли биологическая активность одним веществом из смеси или совокупностью веществ, но это не имеет значения, если имеется озабоченность относительно риска, связанного с этой конкретной смесью. Комитет отмечает, что возможно, что смесь будет проявлять более одной биологической активности, особенно в высоких концентрациях, а значит, есть необходимость тестирования различных концентраций смеси. Комитет предлагает рассмотреть подход перекрестного сравнения сложных смесей в тематическом исследовании, в котором рассматривается гипотетический сайт, представленный в первом примере (см. Вставку 5-6 и Приложение С).

Наконец, новые методы науки об экспозиции, эпидемиологии и -omics технологии предоставляют собой принципиально новый подход для создания гипотез о роли химических веществ и химических смесей в конкретных заболеваниях и для сбора информации о потенциальных рисках, связанных с конкретными территориями. Информация, генерируемая по химическим механизмам, в частности, химическим смесям, специфичным для участка, может быть полезна для выявления высокоспецифичных биомаркеров экспозиции, которые могут быть измерены у людей, работающих или находящихся рядом с объектом. Преимущество поиска биомаркеров перед сбором данных о результатах заболевания заключается в том, что многие заболевания, вызывающие



озабоченность, такие как рак, например, проявляются только после хронической экспозиции или после длительного латентного периода.

#### **ВСТАВКА 5-4** Иллюстративный пример: загрязнение воздуха

Последствия воздействия загрязнения воздуха были широко изучены, доказательства причинно-следственной связи между загрязнением воздуха и раком легких достаточно серьезны, и различные учреждения, в том числе Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer), пришли к выводу о том, что загрязненный атмосферного воздуха является канцерогенным. Тем не менее, остаются нерешенными вопросы, такие как: какие компоненты в первую очередь ответственны за канцерогенность, есть ли взаимодействия или синергизм между различными компонентами, какие эффекты могут возникать при низком уровне экспозиции и какие группы населения могут подвергаться большему риску, как, например, в случае курения табака. Как подробно описано в Приложении В, первая часть этого тематического исследования описывает прогресс в токсикологии, а именно - в технологиях, которые могут помочь в описании негативных эффектов, более тщательном изучении экспозиции и выявлении механизмов и групп риска.

Вторая часть тематического исследования (см. Приложение В) рассматривает ситуацию, когда новый эффект на здоровье связан с хорошо изученным веществом. Последние данные доказывают связь между дефектами нейроразвития у детей и экспозицией загрязненным воздухом. В данном случае вопрос касается, главным образом, идентификации опасности, поскольку причинно-следственные связи между загрязненным воздухом и любым конкретным результатом развития нервной системы еще не установлены. В приложении описаны достижения науки об экспозиции, которые могут улучшить эпидемиологические исследования. Также описаны достижения в области токсикологии, которые могут быть использованы для оценки риска развития нейротоксичности, связанной с загрязнением воздуха.

### Оценка новых химических технологий

Зеленая химия – это направление исследований, которое включает в себя проектирование молекул и продуктов, оптимизированных с учетом уменьшения потенциальной токсичности и устойчивости в окружающей среде, в идеальном случае, они должны производиться из возобновляемых источников и выполнять свои функции также хорошо или лучше, чем химические вещества, на замену которым они проектируются. Под «зеленой химией» часто предполагается синтез новых молекул, о которых отсутствуют данные о токсичности, и которые могут не иметь близких аналогов. Данное направление – это еще один случай, когда использование современных методов токсикологии *in vitro* может иметь большую практическую ценность для выяснения того, какие молекулярные функции связаны с большей или меньшей токсичностью или какие химические вещества не влияют на биологические пути, известные как пути токсичности (Voutchkova et al., 2010). Существует несколько примеров использования методов тестирования токсичности *in vitro* для определения того, являются ли потенциальные заменители химических веществ менее токсичными. Например, Nardelli et al. (2015 г.) оценил влияние ряда потенциальных заменителей фталатных пластификаторов на функцию клеток Сертоли. Также тесты с высокой пропускной способностью были использованы для оценки альтернатив бисфенолу А при производстве внутреннего выстилающего слоя для жестяных консервных банок (Seltenrich 2015). Использование тестовых систем с высокой пропускной способностью в этом контексте концептуально не отличается от тестирования разрабатываемых терапевтических химических веществ для оценки максимальной эффективности и минимальных внецелевых эффектов. Во вставке 5-7 и в приложении D описывается иллюстративное исследование оценки новых химических веществ.

Методы, описанные выше, можно также использовать для оценки токсичности вновь обнаруженных химических веществ в окружающей среде, как, например, в случае обнаружения неожиданных продуктов распада широко используемого пестицида. Если продукты распада химически связаны с их родительскими молекулами, то для оценки их токсичности могут быть также использованы методы хеминформатики (перекрестного сравнительного анализа).

**ВСТАВКА 5-5** Два примера оценки риска, в ответ на обнаруженные экспозиции

В первом примере, ученые, изучавшие территорию вокруг Портленда в штате Орегон (исследования финансировались Суперфондом), обнаружили новые продукты разложения обычных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в окружающей среде (O'Connell et al., 2013). Тридцать восемь оксигенированных ПАУ были идентифицированы как токсикологически не охарактеризованные компоненты смеси ПАУ на участке. Учитывая срочную необходимость тестирования, было проведено испытание методами с высокой пропускной способностью на данио рерио на типичных смесях ПАУ, которые были обнаружены в почве и водных средах Портленда (Knecht et al., 2013). Кроме того, были использованы устройства для пассивного отбора образцов в водных экосистемах и определения концентраций у различных видов, используемых в пищу человеком (Paulik et al., 2016).

Во втором примере был проведен нецелевой химический анализ образцов пыли в Американских домах (American Healthy Homes Survey, Rager et al., 2016). Нецелевой анализ показал спектр хроматографических характеристик (время элюирования, точная масса и изотопная подпись), которые первоначально не могли быть отнесены к известным химическим веществам. Некоторые пики были позднее идентифицированы с использованием аналитических стандартов, которые были выбраны на основе вероятных совпадений с химическими структурами в базе данных АООС «Распределенная структура - поиск по токсичности» (EPA's Distributed Structure-Searchable Toxicity database). Первоначальный скрининг группы идентифицированных химикатов, включая пестициды, никотин и перфлуорооктановую кислоту, был завершен с использованием оценок экспозиции и биоактивности от ExpoCast и ToxCast, соответственно, и информации о частоте и количестве; информация была представлена в формате ToxPi. Авторы также сообщили о наличии большого количества пиков, которые остаются неопределенными и непроверенными. Этот подход может быть применен к другим средам окружающей среды, таким как почва и вода на исследуемых под эгидой Суперфонда объектах, или водотокам, которые используются в качестве общедоступных источников питьевой воды, но были протестированы только на небольшое количество химических веществ.

## НОВЫЕ ПОДХОДЫ И ОБМЕН ИНФОРМАЦИЕЙ

Многие из подходов, представленных в этой главе, незнакомы некоторым группам заинтересованных сторон. Следует подчеркнуть, что результаты исследований только тогда будут применены надлежащим образом, когда информация о сильных и слабых сторонах подходов будет представлена ясным и понятным образом. Потребности в обмене информацией и стратегии коммуникации будут зависеть от группы заинтересованных сторон. Обсуждение здесь сосредоточено на четырех группах заинтересованных сторон: 1) оценщиках риска, 2) менеджерах по управлению рисками и должностных лицах, работающих в области здравоохранения, 3) клиницистов и 4) широкой общественности.

Эксперты по оценке риска, которые несут ответственность за создание нормативов здоровья, должны иметь информацию о деталях новых подходов и о том, как применять их результаты для прогнозирования риска для человека. Они, вероятно, нуждаются в формальной подготовке в области интерпретации и применения новых потоков данных, возникающих в результате исследований в области науки об экспозиции, токсикологии и эпидемиологии. Например, перекрестный анализ, возможно, является наиболее знакомым из альтернативных подходов, описанных в этой главе, но большинству экспертов по оценке рисков по-прежнему требуется большая подготовка по выявлению соответствующих химических аналогов, на основе которых можно анализировать данные, а также по учету падения достоверности результатов оценки при использовании небольшого количества аналогов или аналогов с меньшим количеством структурных совпадений. Им также необходимо развивать партнерские отношения с хемоинформатиками и медицинскими химиками, разрабатывающими стратегии для аналогового поиска, оценивающими пригодность каждого аналога и определяющими вероятный метаболический путь химического вещества, представляющего интерес, и его аналогов.

Большинство экспертов по оценке риска уже знакомы с интеграцией традиционных данных для оценки риска, но им потребуются помощь в понимании того, как интегрировать новые потоки данных и какова их степень достоверности. Один из подходов будет состоять в том, чтобы сравнивать результаты новых методов с более знакомыми источниками данных, особенно в токсикологических исследованиях *in vivo*. Например, недавно АООС пришла к выводу, что тест на эстрогенность с высокой пропускной способностью является приемлемой альтернативой утеротрофному анализу для первичного скрининга

нарушений эндокринной системы (Browne et al., 2015; EPA 2015). Коммуникационная стратегия в этом случае включала описание цели аналитической батареи, объяснение биологического пространства, охваченного батареей (то есть оцениваемого пути передачи сигналов эстрогена и избыточности анализов), описание вычислительной модели, которая объединяет данные из всех анализов и различает реальный ответ и шумовые помехи и сравнение с существующим методом, который в большинстве случаев показал свою надежность. Документы, подобные приведенному, являются полезными моделями для дальнейшей технической коммуникации с экспертами по оценке риска.

Менеджеры по рискам и должностные лица, работающие в области здравоохранения не нуждаются в подробной информации о тестах и их применении для оценки риска; им необходимо знать погрешности, связанные с оценками риска и быть уверенными в том, что они учтены. Таким образом, коммуникационные стратегии должны выстраиваться в этой группе таким образом, чтобы быть способными решить эти вопросы. В этой главе обсуждалась возможность использования перекрестного сравнительного анализа для увеличения числа химикатов, оцениваемых в процессе PPRTV, а в приложении С приводится пример тематического исследования, в котором используются хемоинформатические методы для определения токсического потенциала 4-метилциклогексанметанола, химического вещества, для которого отсутствуют экспериментальные данные. Оба примера иллюстрируют, как новые подходы позволяют получить информацию, недоступную иными способами. Однако необходимо оговаривать неопределенности, связанные с новыми подходами.

Поскольку ученые продвигают идею идентификации большого количества компонентов, ответственных за многофакторные заболевания, необходимо доводить до сведения с клиницистов и общественности информацию о том, как были идентифицированы факторы, как они связаны друг с другом и можно ли уменьшить экспозицию одним или несколькими факторами для снижения риска заболевания. Врачи начинают использовать новые методы, по мере того как геномная информация об отдельных пациентах становится доступной, и персонализированная медицина становится реальностью, но все же необходимо будет поддерживать тесный контакт с врачами посредством публикаций и оказывать поддержку в диагностических и лечебных мероприятиях.

Что касается широкой общественности, несмотря на то, что многие люди получают информацию о своем здоровье от своих врачей, для многих источником информации чаще

является интернет и популярная пресса. Информация, которую эти средства массовой информации требуют о новых подходах, качественно не отличается от той, что необходима клиницистам, но она должна быть представлена в формате, удобном для понимания обывателей.

Наконец, расширение связей между научными сообществами как на национальном, так и на международном уровне жизненно важно для полного достижения целей, изложенных в докладах Тох21 и ES21, а также для достижения консенсуса относительно преимуществ новых подходов и их включения в процесс принятия решений. Коммуникация должна включать в себя улучшенную и более прозрачную интеграцию данных и технологий, полученных из различных источников, включая академические лаборатории. Университеты могли бы служить каналом связи для множества заинтересованных сторон, в особенности врачей и широкой общественности; таким образом, их взаимодействие должно быть стратегически выгодным. В конечном счете, междисциплинарная и всеобъемлющая стратегия научного дискурса поможет достичь широкого понимания и уверенности в новых методах.

#### **ВСТАВКА 5-6** Тематическое исследование: сайт-специфичная оценка риска

Было разработано три тематических исследования, связанных с оценкой каждого участка, которые исследуют каждый элемент проблемы и возможности включения науки 21 века в оценки токсикологических рисков. В Приложении С приводится подробная информация о конкретных примерах, описанных ниже.

- *Идентификация химических веществ.* Был исследован большой участок исторически загрязненной территории с поверхностными водами вблизи крупного населенного пункта и описан целевой и нецелевой анализ химических веществ.
- *Характеристика токсичности.* Был изучен случай утечки в 2014 году 4-метилциклогексанметанола в реку Элк примерно 1 миле выше по течению от водозаборного сооружения города Чарльстон (Западная Вирджиния) и описаны инструменты для определения экспозиции и токсичности, помогающие понять риски для человеческой популяции.
- *Определение токсичности смеси.* Была произведена оценка токсичности сложных смесей, наблюдаемых в образцах окружающей среды, тканях и биожидкостях, и проиллюстрировано, как биологический подход, основанный на перекрестном анализе, может быть использован для проведения процедуры оценки риска.

## ТРУДНОСТИ И РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИХ ПРЕОДОЛЕНИЮ

Как и ранее отмечалось в данном отчете, существуют определенные сложности с внедрением новой стратегии для оценки рисков в полном объеме. Некоторые из них, такие как валидация моделей и тестов, рассматриваются в последующих главах. Здесь комитет освещает несколько проблем, которые характерны для методов и подходов, описанных в настоящей главе, и предлагает некоторые рекомендации для их решения.

*Задача:* Для оценки риска отдельных химических веществ уже применяются различные подходы, такие как хемоинформатика и перекрестный анализ, потому что существующие подходы недостаточны эффективны для покрытия пробелов в информации по химическим веществам, ожидающим тестирования. Однако методы группирования химических веществ, оценка пригодности аналогов, а также учет качества данных все еще разрабатываются или применяются непоследовательно.

*Рекомендация:* Следует продолжать совершенствовать новые методы ( хемоинформатика и перекрестный анализ) и интегрировать их в процесс оценки экологических и химических рисков. Высокопроизводительные, клеточные и высокоинформативные подходы, такие как анализ экспрессии генов, предоставляют большой объем данных, которые могут быть использованы для проверки допущений, сделанных при перекрестном анализе, о том, что аналоги имеют одни и те же биологические участки-мишени и последствия для здоровья. Подходы, основанные на перекрестном анализе и хемоинформатике, зависят от высококачественных, хорошо управляемых баз данных; курирование данных и обеспечение качества должны быть рутинной частью их разработки и обслуживания. Также, следует поощрять использование новых методов в тематических исследованиях.

*Задача:* Методы тестирования, использующие большие объемы данных для оценки потенциальной токсичности, создают проблему в том, что касается синтеза информации для использования ее в процессе принятия решений.

*Рекомендация:* Статистические методы, которые могут интегрировать большие объемы данных и которые было бы легко использовать экспертам по оценке риска, должны быть понятными и удобными.

**Задача:** Определение и оценка биологических событий, находящихся на много этапов выше по течению от момента начала развития болезненных состояний, приведет к появлению новых источников погрешностей в процессе оценки риска. Использование данных об этих событиях в качестве отправной точки для оценки риска потребует новых подходов к оценке риска, отличающихся от существующих методов.

**Рекомендация:** По мере использования методов и подходов 21 века, будут возникать новые типы неопределенностей, соответственно, должны быть проведены исследования для выявления этих новых источников неопределенностей и их масштабов. Вместе с тем, традиционные источники неопределенностей исчезнут в связи с уменьшением количества экспериментов на животных моделях.

#### **ВСТАВКА 5-7** Тематическое исследование : оценка новых химических веществ

В этом тематическом исследовании описывается гипотетический пример, в котором есть три варианта «новых» химических веществ для использования в производственном процессе, которые приведут к экспозиции человека. В Приложении D, комитет описывает *in vitro* высокопроизводительные данные о химических веществах и о том, что эти данные могут означать. Затем он рассматривает несколько сценариев экспозиций человека, и вычисляет выбросы в помещениях, соответствующие данным биологического анализа *in vitro*. Комитет завершает обсуждение вопроса о том, как данные могут быть использованы в процессе принятия решений.

## **REFERENCES**

- Abdo, N., B.A. Wetmore, G.A. Chappell, D. Shea, F.A. Wright, and I. Rusyn. 2015a. In vitro screening for population variability in toxicity of pesticide-containing mixtures. *Environ. Int.* 85: 147-155.
- Abdo, N., M. Xia, C.C. Brown, O. Kosyk, R. Huang, S. Sakamuru, Y.H. Zhou, J.R. Jack, P. Gallins, K. Xiam Y. Li, W.A. Chiu, A.A. Motsinger-Reif, C.P. Austin, R.R. Tice, I. Rusyn, and F.A. Wright. 2015b. Population-based in vitro hazard and concentration-response assessment of chemicals: The 1000 genomes high-throughput screening study. *Environ. Health Perspect.* 123(5): 458-466.
- Battaile, K.P, and R.D. Steiner. 2000. Smith-Lemli-Opitz syndrome: The first malformation syndrome associated with defective cholesterol synthesis. *Mol. Genet. Metab.* 71(1-2): 154-162.



Bhattacharya, S., Q. Zhang, P.L. Carmichael, K. Boekelheide, and M.E. Andersen. 2011. Toxicity testing in the 21 century: Defining new risk assessment approaches based on perturbation of intracellular toxicity pathways. *PLoS One* 6(6): e20887.

Blackburn, K., D. Bjerke, G. Daston, S. Felter, C. Mahony, J. Naciff, S. Robison, and S. Wu. 2011. Case studies to test: A framework for using structural, reactivity, metabolic and physicochemical similarity to evaluate the suitability of analogs for SAR-based toxicological assessments. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 60(1): 120-135.

Browne, P., R.S. Judson, W.M. Casey, N.C. Kleinstreuer, and R.S. Thomas. 2015. Screening chemicals for estrogen receptor bioactivity using a computational model. *Environ. Sci. Technol.* 49(14): 8804-8814.

Daston, G., and J.M. Naciff. 2010. Predicting developmental toxicity through toxicogenomics. *Birth Defects Res. C. Embryo Today* 90(2): 110-117.

De Abrew, K.N., R.M. Kainkaryam, Y.K. Shan, G.J. Overmann, R.S. Settivari, X. Wang, J. Xu, R.L. Adams, J.P. Tiesman, E.W. Carney, J.M. Naciff, and G.P. Daston. 2016. Grouping 34 chemicals based on mode of action using connectivity mapping. *Toxicol. Sci.* 151(2): 447-461.

Eduati, F. L.M. Mangravite, T. Wang, H. Tang, J.C. Bare, R. Huang, T. Norman, M. Kellen, M.P. Menden, J. Yang, X. Zhan, R. Zhong, G. Xiao, M. Xia, N. Abdo, O. Kosyk, S. Friend, A. Dearry, A. Simeonov, R.R. Tice, I. Rusyn, F.A. Wright, G. Stolovitzky, Y. Xie, and J. Saez-Rodriguez. NIEHS-NCATS-UNC DREAM Toxicogenetics Collaboration. 2015. Prediction of human population responses to toxic compounds by a collaborative competition. *Nat. Biotechnol.* 33(9): 933-940.

Egeghy, P.P., R. Judson, S. Gangwal, S. Mosher, D. Smith, J. Vail, and E.A. Cohen Hubal. 2012. The exposure data landscape for manufactured chemicals. *Sci. Total Environ.* 414(1): 159-166.

EPA (US Environmental Protection Agency). 2000. Supplementary Guidance for Conducting Risk Assessments of Chemical Mixtures. EPA/630/R-00/002. Risk Assessment Forum Technical Panel, US Environmental Protection Agency, Washington, DC [online]. Available: [https://cfpub.epa.gov/ncea/raf/pdfs/chem\\_mix/chem\\_mix\\_08\\_2001.pdf](https://cfpub.epa.gov/ncea/raf/pdfs/chem_mix/chem_mix_08_2001.pdf) [accessed September 30, 2016].

EPA (US Environmental Protection Agency). 2015. Use of High Throughput Assays and Computational Tools in the Endocrine Disruptor Screening Program-Overview [online]. Available: <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/use-high-throughput-assays-and-computational-tools-endocrine-disruptor> [accessed December 1, 2016].

Incardona, J.P., W. Gafeld, R.P. Kapur, and H. Roelink. 1998. The teratogenic Veratrum alkaloid cyclopamine inhibits sonic hedgehog signal transduction. *Development* 125(18): 3553-3562.

- Jaworska, J., Y. Dancik, P. Kern, F. Gerberick, and A. Natsch. 2013. Bayesian integrated testing strategy to assess skin sensitization potency: From theory to practice. *J. Appl. Toxicol.* 33(11): 1353-1364.
- Judson, R.S., M.T. Martin, D.M. Reif, K.A. Houck, T.B. Knudsen, D.M. Rotroff, M. Xia, S. Sakamuru, R. Huang, P. Shinn, C.P. Austin, R.J. Kavlock, and D.J. Dix. 2010. Analysis of eight oil spill dispersants using rapid, in vitro tests for endocrine and other biological activity. *Environ. Sci. Technol.* 44(15): 5979-5985.
- Kleinstreuer, N., D. Dix, M. Rountree, N. Baker, N. Sipes, D. Reif, R. Spencer, and T. Knudsen. 2013. A computational model predicting disruption of blood vessel development. *PLoS Comput. Biol.* 9(4): e1002996.
- Knecht, A.L., B.C. Goodale, L. Troung, M.T. Simonich, A.J. Swanson, M.M. Matzke, K.A. Anderson, 1 and R.L. Tanguay. 2013. Comparative developmental toxicity of environmentally relevant 2 oxygenated PAHs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 271(2): 266-275.
- Kolf-Clauw, M, F. Chevy, B. Siliart, C. Wolf, N. Mulliez, and C. Roux. 1997. Cholesterol biosynthesis inhibited by BM15.766 induces holoprosencephaly in the rat. *Teratology* 56(3):188-200.
- Lamb, J., E.D. Crawford, D. Peck, J.W. Modell, I.C. Blat, M.J. Wrobel, J. Lerner, J.P. Brunet, A. Subramanian, K.N. Ross, M. Reich, H. Hieronymus, G. Wei, S.A. Armstrong, S.J. Haggarty, P.A. Clemons, R. Wei, S.A. Carr, E.S. Lander, and T.R. Golub. 2006. The connectivity map: Using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease. *Science* 313(5795): 1929-1935.
- Liu, C., J. Su, F. Yang, K. Wei, J. Ma, and X. Zhou. 2015. Compound signature detection on LINCS L1000 big data. *Mol. Biosyst.* 11(3): 714-722.
- McHale, C.M., L. Zhang, and M.T. Smith. 2012. Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: Implications for risk assessment. *Carcinogenesis* 33(2): 240-252.
- Muir, D.C., and P.H. Howard. 2006. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40(23): 7157-7166.
- Nardelli, T.C., H.C. Erythropel, and B. Robaire. 2015. Toxicogenomic screening of replacements for di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) using the immortalized TM4 Sertoli cell line. *PLoS One* 10(10): e0138421.

NRC (National Research Council). 1983. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Washington, DC: National Academy Press.

NRC (National Research Council). 2006. Human Biomonitoring for Environmental Chemicals. Washington, DC: The National Academies Press.

NRC (National Research Council). 2007. Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy. Washington, DC: The National Academies Press.

NRC (National Research Council). 2008. Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Tasks Ahead. Washington, DC: The National Academies Press.

NRC (National Research Council). 2009. Science and Decisions: Advancing Risk Assessment. Washington, DC: The National Academies Press.

NRC (National Research Council). 2012. Exposure Science in the 21st Century: A Vision and a Strategy. Washington, DC: National Academies Press.

NTP (National Toxicology program). 2016. Nominations to the testing program [online]. Available: <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/noms/index.html> [accessed July 22, 2016].

O'Connell, S.G., T. Haigh, G. Wilson, and K.A. Anderson. 2013. An analytical investigation of 24 oxygenated-PAHs (OPAHs) using liquid and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 405(27): 8885-8896.

Paulik, L.B., B.W. Smith, A.J. Bergmann, G.J. Sower, N.D. Forsberg, J.G. Teeguarden, and K.A. 1 Anderson. 2016.

Passive samplers accurately predict PAH levels in resident

cray sh. *Sci. Total Environ.* 544:782-791. Rager, J.E., M.J. Strynar, S. Liang, R.L. McMahan, A.M.

Richard, C.M. Grulke, J.F. Wambaugh, K.K. Isaacs, R. Judson, A.J. Williams, and J.R. Sobus. 2016. Linking high resolution mass spectrometry data with exposure and toxicity forecasts to advance high-throughput environmental monitoring. *Environment Int.* 88:269-280.

Roessler, E., E. Belloni, K. Gaudenz, F. Vargas, S.W. Scherer, L.C. Tsui, and M. Muenke. 1997. Mutations in the C-terminal domain of Sonic Hedgehog cause holoprosencephaly. *Hum. Mol. Genet.* 6(11): 1847-1853.

Rovida, C., N. Alépée, A.M. Api, D.A. Basketter, F.Y. Bois, F. Caloni, E. Corsini, M. Daneshian, C. Eskes, J. Ezendam, H. Fuchs, P. Hayden, C. Hegele-Hartung, S. Hoffmann, B. Hubesch, M.N. Jacobs, J. Jaworska, A. Kleensang, N. Kleinstreuer, J. Lalko, R. Landsiedel, F. Lebreux, T. Luechtefeld, M.

Locatelli, A. Mehling, A. Natsch, J.W. Pitchford, D. Prater, P. Prieto, A. Schepky, G. Schüürmann, L. Smirnova, C. Toole, E. van Vliet, D. Weisensee, and T. Hartung. 2015. Integrated testing strategies (ITS) for safety assessment. *ALTEX* 32(1): 25-40.

Rudén, C., and S.O. Hansson. 2010. Registration, Evaluation, and Authorization of Chemicals (REACH) is but the first step. How far will it take us? Six further steps to improve the European chemicals legislation. *Environ. Health Perspect.* 118(1): 6-10.

Seltenrich, N. 2015. A hard nut to crack: Reducing chemical migration in food-contact materials. *Environ. Health Perspect.* 123(7): A174-A179.

Shin, H.M., A. Ernstoff, J.A. Arnot, B.A. Wetmore, S.A. Csiszar, P. Fantke, X. Zhang, T.E. McKone, O. Joliet, and D.H. Bennett. 2015. Risk-based high-throughput chemical screening and prioritization using exposure models and in vitro bioactivity assays. *Environ. Sci. Technol.* 49(11): 6760-6771.

Tal, T.L., C.W. McCollum, P.S. Harris, J. Olin, N. Kleinstreuer, C.E. Wood, C. Hans, S. Shah, F. A. Merchant, M. Bondesson, T.B. Knudsen, S. Padilla, and M.J. Hemmer. 2014. Immediate and long-term consequences of vascular toxicity during zebra fish development. *Reprod. Toxicol.* 48:51-61.

Voutchkova, A.M., T.G. Osimitz, and P.T. Anastas. 2010. Toward a comprehensive molecular design framework for reduced hazard. *Chem. Rev.* 110(10): 5845-5882.

Wambaugh, J.F., R.W. Setzer, D.M. Reif, S. Gangwal, J. Mitchell-Blackwood, J.A. Arnot, O. Joliet, A. Frame, J. Rabinowitz, T.B. Knudsen, R.S. Judson, P. Egeghy, D. Vallero, and E.A. Cohen Hubal. 2013. High-throughput models for exposure-based chemical prioritization in the ExpoCast project. *Environ. Sci. Technol.* 47(15): 8479- 8488.

Wetmore, B.A., J.F. Wambaugh, S.S. Ferguson, L. Li, H.J. Clewell, III, R.S. Judson, K. Freeman, W. Bao, M.A. Sochaski, T.M. Chu, M.B. Black, E. Healy, B. Allen, M.E. Andersen, R.D. Wol nger, and R.S. Thomas. 2013. Relative impact of incorporating pharmacokinetics on predicting in vivo hazard and mode of action from high-through-put in vitro toxicity assays. *Toxicol. Sci.* 132(2): 327-346.

Wu, S., K. Blackburn, J. Amburgey, J. Jaworska, and T. Federle. 2010. A framework for using structural, reactivity, metabolic and physicochemical similarity to evaluate the suitability of analogs for SAR-based toxicological assessments. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 56(1): 67-81.

Wu, S., J. Fisher, J. Naciff, M. Laifersweiler, C. Lester, G. Daston, and K. Blackburn. 2013. Framework for identifying chemicals with structural features associated with the potential to act as developmental or reproductive toxicants. *Chem. Res. Toxicol.* 26(12): 1840-1861.