МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34877.2— 2022

ПУТЬ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА ДЛЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ КОЖИ, ВЫЗВАННОЙ КОВАЛЕНТНЫМ СВЯЗЫВАНИЕМ С БЕЛКАМИ

Часть 2

Применение при классификации и разработке интегрированных подходов к комплексной оценке и испытаниям химической продукции. Серия по испытаниям и оценке № 168

(ENV/JM/MONO(2012)10/PART2:2012, The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins — Part 2: Use of the AOP to Develop Chemical Categories and Integrated Assessment and Testing Approaches — Series on Testing and Assessment № 168, MOD)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации по результатам голосования в АИС МГС (протокол от 31 августа 2022 г. № 153-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 ноября 2025 г. № 1477-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34877.2—2022 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 ноября 2026 г. с правом досрочного применения

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу ENV/JM/MONO(2012)10/PART2:2012 «Путь неблагоприятного исхода для сенсибилизации кожи, вызванный ковалентным связыванием с белками. Часть 2. Применение AOP при разработке категорий химических веществ и интегрированных подходов к комплексной оценке и испытаниям. Серия по испытаниям и оценке № 168» («The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins — Part 2: Use of the AOP to Develop Chemical Categories and Integrated Assessment and Testing Approaches — Series on Testing and Assessment № 168», MOD) путем изменения его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

В тексте стандарта библиографические ссылки приведены не в порядке возрастания из-за особенностей построения примененного международного документа.

Международный документ разработан международной Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР).

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа приведено в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты».

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025



В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Общее представление структуры AOP 1
3 Формирование класса химической продукции, способной вызывать сенсибилизацию кожи 4
4 Интегрированные подходы к испытаниям и оценке (IATA) для кожных сенсибилизаторов 7
Приложение А (обязательное) Подтверждение принадлежности 1-хлор-2,4-динитробензола (ДНХБ) к веществам, способным вызывать сенсибилизацию кожи, с применением концепции пути неблагоприятного исхода (AOP). 9
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа 16
Библиография 17

Введение

В декабре 2010 г. ОЭСР было организовано проведение научно-практического семинара на тему «Использование механистической информации при формировании классов опасности химической продукции». Целью семинара было определение исходного набора научных данных, которые могли бы способствовать дальнейшей разработке и применению концепции путей неблагоприятного исхода (AOP). Одна из его задач заключалась в обсуждении предложений, касающихся возможности упорядочения информации о механизме или способе токсического воздействия в виде описания ключевых событий и процессов, представляющих собой элементы пути неблагоприятного исхода, для содействия классификации химической продукции (см. [36]). AOP в рамках данного семинара рассматривался как структурированное представление, последовательно описывающее документированные, аргументированные и экспериментально проверенные процессы, в ходе которых химическая продукция вызывает определенные молекулярные нарушения и соответствующие им биологические эффекты, и определяющее, каким образом эти молекулярные нарушения приводят к дальнейшим последствиям, наблюдаемым на уровне субклеток, клеток, ткани, органа, на уровне животного, а также (при необходимости) на уровне популяции в целом (см. [36]).

На семинаре были представлены материалы по нескольким прикладным исследованиям, послужившие основой для дискуссии. С учетом преимуществ и недостатков данных исследований был предложен для соблюдения ряд обоснованных принципов, рекомендуемых для разработки AOP с целью классификации химической продукции (см. [36]). Согласно данным принципам AOP должен базироваться на известном одиночном исходном молекулярном событии и должен быть связан с подтвержденным опасным последствием (группой последствий), которое наблюдается *in vivo*. Важно, чтобы любая модель, используемая для разработки AOP, включала в себя обобщенную информацию об экспериментальных данных, подтверждающих его обоснованность, а также сведения, касающиеся: 1) уровня качественной интерпретации AOP; 2) согласованности экспериментальных данных; 3) степени достоверности AOP и 4) уровня количественной интерпретации AOP (см. [36]).

Кроме того, была достигнута договоренность о том, что оценка уровня качественной интерпретации AOP должна включать документированные сведения о: 1) исходном молекулярном событии и локализации воздействия; 2) ключевых реакциях клеток; 3) ткани/органе(ах), выступающих в качестве мишени, и ключевых реакциях этих ткани или органа; 4) ключевых реакциях на уровне всего организма, рассматриваемых как с физиологической, так и с анатомической точки зрения, а также 5) (при необходимости) ключевых реакциях на уровне популяции (см. [36]).

Было также отмечено, что при оценке свидетельств, подтверждающих обоснованность AOP, следует учитывать критерии, предусмотренные методической схемой IPCS (International Programme on Chemical Safety) (см. [14]).

В степени достоверности, обеспечиваемой AOP, можно удостовериться, исходя из ответов на следующие вопросы:

1. Насколько подробно охарактеризован AOP?

2. Насколько убедительно представлена причинно-следственная связь исходного события и последующих ключевых событий с конечным неблагоприятным исходом?

3. Какие факторы накладывают ограничения на возможность получения свидетельств, подтверждающих актуальность AOP?

4. Является ли рассматриваемый AOP характерным для конкретных видов тканей, жизненных стадий/возрастных классов?

5. Предполагается ли, что исходное событие и последующие ключевые события будут однотипными для различных таксонов?

Оценка уровня количественной интерпретации должна включать в себя документированные сведения о: 1) исходном молекулярном событии; 2) последующих ключевых событиях; 3) соотношении «воздействие — эффект», необходимом для преобразования токсического проявления(ий) *in vitro,* впоследствии *in vivo* (см. [36]).

Наконец, было выработано согласованное мнение о том, что определение параметров соответствующего химического пространства критически важно для классификации химической продукции и обеспечивается путем получения ответов на следующие вопросы:

1. Воздействие какой химической продукции может приводить или не приводить к исходному молекулярному событию, предусматриваемому AOP?

2. Какие химические характеристики повышают/снижают вероятность отнесения последствий воздействия химической продукции к определенному АОР?

3. Имеют ли место схожие ключевые события для ряда химической продукции, обуславливающие общий АОР?

4. Имеются ли у химической продукции различия, которые могли бы служить основанием для отнесения ее к подклассам опасности?

Участники семинара договорились о подготовке ряда рекомендаций, касающихся совершенствования использования концепции АОР (см. [36]). Данные рекомендации предусматривали привлечение специалистов в области токсикологии, а также других научных сотрудников к участию в дискуссиях, касающихся АОР, с целью интенсификации межотраслевого взаимодействия при разработке АОР для хорошо изученных нежелательных проявлений, таких как сенсибилизация кожи.

Если сформулировать вкратце, то АОР представляет собой последовательность фактов и событий от химической структуры продукции, включая исходное молекулярное событие, до исследуемых последствий *in vivo*. АОР является способом представления имеющихся знаний о взаимосвязи(ях) между исходным молекулярным событием и неблагоприятным исходом на уровне отдельного организма или целой популяции. Несмотря на то что изначально АОР могут представляться как линейные процессы, на практике количество деталей и линейный характер варианта развития исходного молекулярного события до неблагоприятного исхода могут существенно различаться, в особенности при наблюдении за показателями здоровья человека, в случае, когда нежелательные последствия являются результатом воздействия на ряд органов (например, сенсибилизация кожи), наступления ряда событий (например, токсичность повторной дозы), которые накапливаются с течением времени (например, нейротоксичность), либо присущи определенной жизненной стадии организма (например, эмбриофетальная токсичность).

АОР предусматривает, что химические взаимодействия происходят на молекулярном уровне, а не на уровне всего живого организма. Таким образом, неблагоприятные последствия, наблюдаемые *in vivo*, являются результатом множества биологических реакций в сочетании с химической структурой токсического вещества. Важной задачей при разработке АОР является исключение смешения информации от разнообразных механизмов воздействия (например, различные исходные молекулярные события, способные приводить к одному и тому же нежелательному исходу *in vivo*, при разных АОР). Если исходное молекулярное событие тесно связано с реакцией, наблюдаемой *in vivo,* специалист может легко определить класс опасности химической продукции или общепринятую количественную зависимость «структура — активность» (quantitative structure-activity relationship — QSAR) между показателем *in vivo* и химической структурой (например, острая токсичность у рыб). В рамках предлагаемого ОЭСР программного инструментария QSAR Toolbox (далее — программный инструментарий), (gost.e-ecolog.ru env/hazard/qsar) эта цель достигается путем профилирования (т. е. формирования классов опасности химической продукции) с использованием механистических модулей-профилировщиков и последующего заполнения недостающих данных путем применения метода аналогий или анализа тенденций изменений (т. е. посредством упрощенного QSAR-анализа), исходя из результатов наблюдений *in vivo,* содержащихся в базах данных. В то же время подобного рода прямые взаимосвязи достаточно редко встречаются, если речь идет о показателях здоровья человека. Более того, в отсутствие понятного описания вероятного прогрессирования неблагоприятных последствий на тех или иных уровнях биологической системы представляется затруднительным достоверное формирование классов опасности химической продукции на основе сходства 2-мерных химических структур и подклассов опасности — на основе близости их токсических свойств, двух критически важных аспектов для данного инструментария. Применение АОР способствует решению указанных проблем, поскольку оно обеспечивает возможность отнесения различной химической продукции к определенным классам, с одновременным учетом как восходящих химических, так и нисходящих биологических процессов. Внедрение понятия АОР смещает акценты в работе по классификации химической продукции с простого изучения их собственной химической активности в сторону комплексного изучения химической активности и ключевых событий, отмечаемых на различных уровнях биологической системы. В этом смысле АОР представляют собой надежную механистическую платформу для логических рассуждений, чтобы способствовать применению метода аналогий и классификации химической продукции, исключая непосредственные исследования на острую токсичность, могут быть полезны для целей дальнейшего совершенствования применяемого программного инструментария за счет включения в базу данных имеющих отношение токсикологических профилей с соответствующими изученными АОР.

Термин «сенсибилизация кожи» используется для обозначения регламентируемых опасных факторов, известных как аллергический контактный дерматит у человека или контактная гиперчувствительность у грызунов, важных с медицинской точки зрения показателей, принимаемых в расчет при оценке опасностей и рисков, сопряженных с использованием химической продукции. Сенсибилизация кожи — это хорошо изученное неблагоприятное последствие химического воздействия, аспекты которого явились предметом для сотен научных публикаций, издававшихся в течение последнего десятилетия (из последнего см. [10], [9], [6]). Поскольку нековалентные взаимодействия с металлами и окислительно-восстановительный цикл увязывают с сенсибилизацией кожи, основное внимание при проведении исследований все же уделяется химической продукции, способной образовывать ковалентные связи с тиолом и/или первичными аминогруппами, присутствующими в белках кожи. В зависимости от исследуемой химической продукции варианты одного и того же AOP могут различаться в зависимости от предпочитаемых целевых заместителей и преобладающих химических реакций, однако основные нисходящие биологические ответные реакции для них одинаковы.

Сенсибилизация кожи — это иммунологический процесс, при описании которого выделяют две фазы, а именно: индукцию сенсибилизации и последующее развитие иммунной реакции (см. [26]). Первая фаза включает в себя ряд событий, описываемых в данном AOP. Несмотря на наличие консенсуса в отношении общей структуры этих событий, понимания лежащих в основе особенностей большинства ключевых событий достигнуть пока не удалось. В то же время в противоположность принципам и концепциям, предусмотренным методической схемой IPCS MOA (Mode of Action) (см. [14]), глубокое понимание природы всех событий не является обязательным при использовании AOP для классификации химической продукции. В силу множества биологических составляющих (т. е. органов и различных типов клеток) оценка сенсибилизации кожи, как правило, осуществлялась в прошлом и продолжает осуществляться до настоящего времени на основе данных испытаний *in vivo*, хотя на стадии разработки или предварительной валидации уже находится ряд альтернативных методов (см. [3], [6]).

Хотя некоторые из процессов, рассматриваемых в настоящем стандарте, также играют существенную роль в формировании иммунного ответа по отношению к металлам или аллергенам биологического происхождения, приведенный AOP концентрируется на органической химической продукции, в частности такой, которая способна вступать в реакцию с тиолом (т. е. цистеином) и первичными аминами (т. е. лизином). С учетом указанного ведущая роль Toll-подобного рецептора 4 в сенсибилизации по отношению к никелю (см. [39]) должна быть подробно рассмотрена в рамках отдельного AOP, в котором следует также обосновывать, почему наиболее часто применяемый в настоящее время для оценки кожной сенсибилизации у мышей *in vivo* метод изучения реакции регионарных лимфатических узлов (Local Lymph Node Assay — LLNA) не обеспечивает достоверную классификацию воздействия никеля.

В фазе индукции, или накопления, химическая продукция, или аллерген, проникает сквозь наружный слой эпидермиса кожи. В течение данного пассажа химическая продукция потенциально может подвергаться процессам биологической трансформации, что в свою очередь может повышать или понижать ее аллергенный потенциал. Исходная химическая продукция или метаболит формируют стабильные конъюгаты с белками-носителями, локализующимися в толще кожи. С образовавшимися стабильными конъюгатами, или гаптен-белковыми комплексами, взаимодействуют затем эпидермальные дендритные клетки (так называемые клетки Лангерганса) и дермальные дендритные клетки, которые, последовательно созревая, мигрируют из эпидермиса в регионарные лимфатические узлы. Гаптен-белковые комплексы также могут реагировать с кератиноцитами, вызывая у них активный ответ, после чего те в свою очередь взаимодействуют с дендритными клетками. В лимфатических узлах дендритные клетки предъявляют молекулы главного комплекса гистосовместимости, содержащие части гаптен-белкового комплекса, нативным Т-лимфоцитам (Т-клеткам). Это приводит к дифференциации и пролиферации специфичных к аллергену Т-клеток памяти, некоторые из которых начинают циркулировать по всему телу (см. рисунок 1).

Фаза развития, или фаза провокации, наступает при последующем контакте с тем же самым аллергеном. В этом случае снова образуются гаптен-белковые конъюгаты, которые захватываются эпидермальными дендритными клетками и другими антигенпрезентирующими клетками. Аллергенспецифичные активированные Т-клетки, циркулирующие в организме, реагируют выделением специфичных цитокинов, что приводит к высвобождению воспалительных цитокинов и мобилизации цитотоксических Т-клеток, а также иных воспалительных клеток из потока крови. Эти клетки мигрируют в эпидермис кожи, вызывая местную воспалительную реакцию, характерным признаком которой служит появление красных высыпаний, пузырьков, крапивницы, сопровождаемое ощущениями зуда и жжения кожи (см. рисунок 2).

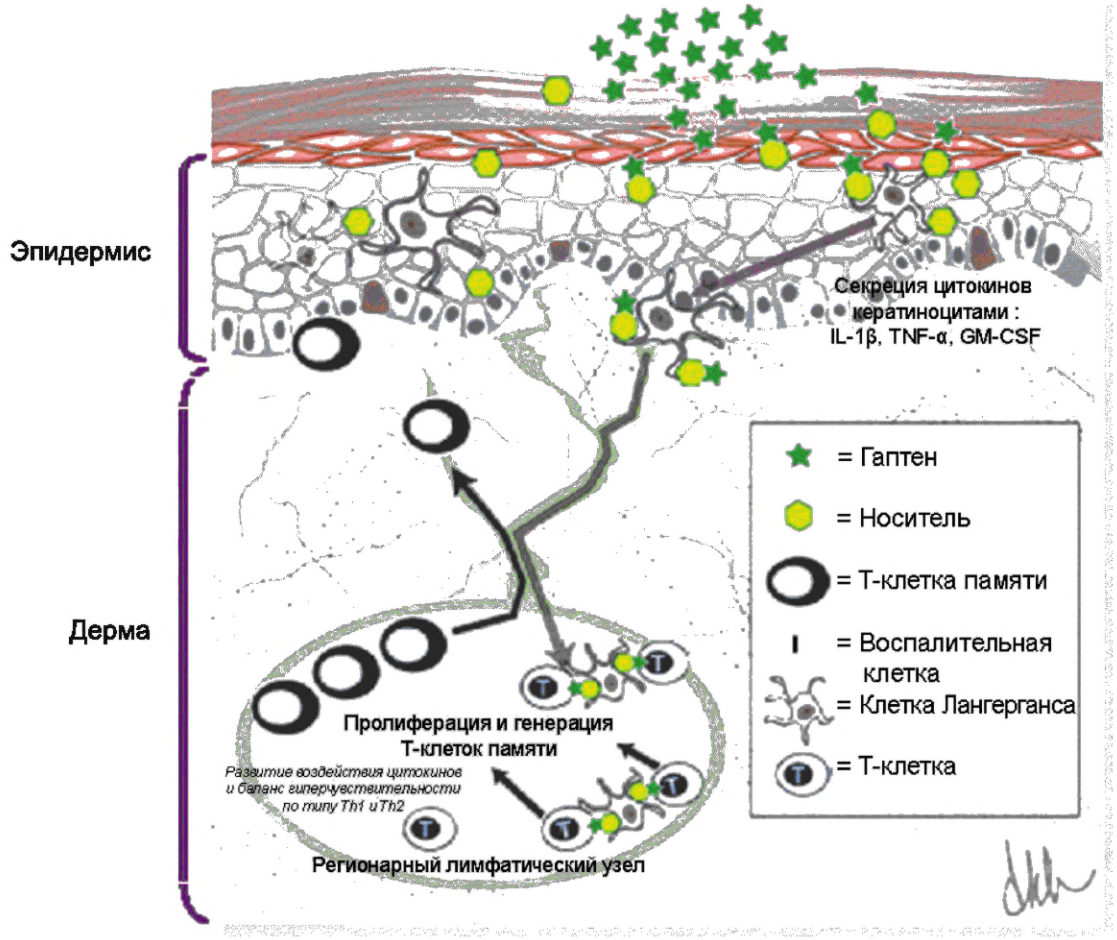

Рисунок 1 — Фаза индукции сенсибилизации кожи

Согласно установившейся практике к ошибке при распознавании продукции, дающей положительный и отрицательный ответ при проведении опытов на интактных животных, как регулирующие органы, так и другие стороны, заинтересованные в получении результатов эксперимента, за исключением отдельных случаев, относятся с пониманием. Но если раньше достаточными для классификации химической продукции по ее способности оказывать сенсибилизирующее воздействие считались данные визуального осмотра подопытных морских свинок, то с началом применения метода LLNA для мышей (см. [10], [27]), в сочетании с использованием показателя EC3 (эффективной концентрации исследуемого вещества, необходимой для получения индекса стимуляции, равного 3) (см. [11]), особое внимание уделяется вопросам отнесения химической продукции к группам, различающимся по степени такого воздействия (например, очень сильная, сильная, умеренная, слабая и не обладающая аллергенным действием).

В настоящее время метод LLNA зачастую используют для промежуточной оценки новых предлагаемых подходов. Наряду с тем, что метод LLNA может быть полезен для целей валидации других методов, сведения о точности данного метода являются неполными (см. [12]), что вызывает интерес в практике оценки сенсибилизации кожи по совокупности имеющихся свидетельств (см. [8]). В любом случае активные попытки замены методов испытаний *in vivo* одним альтернативным методом или сочетанием таких методов (см. [6]) продолжаются. В противоположность методам *in vivo*, предусматривающим проведение испытаний в интактных динамических системах, альтернативные подходы, включающие *in chemico* или *in vitro*, являются относительно статическими и сосредотачиваются на описании или количественной оценке отдельных химических, биохимических и/или клеточных событий для последующего использования в рамках опирающегося на AOP интегрированного подхода к испытаниям и/или оценке.

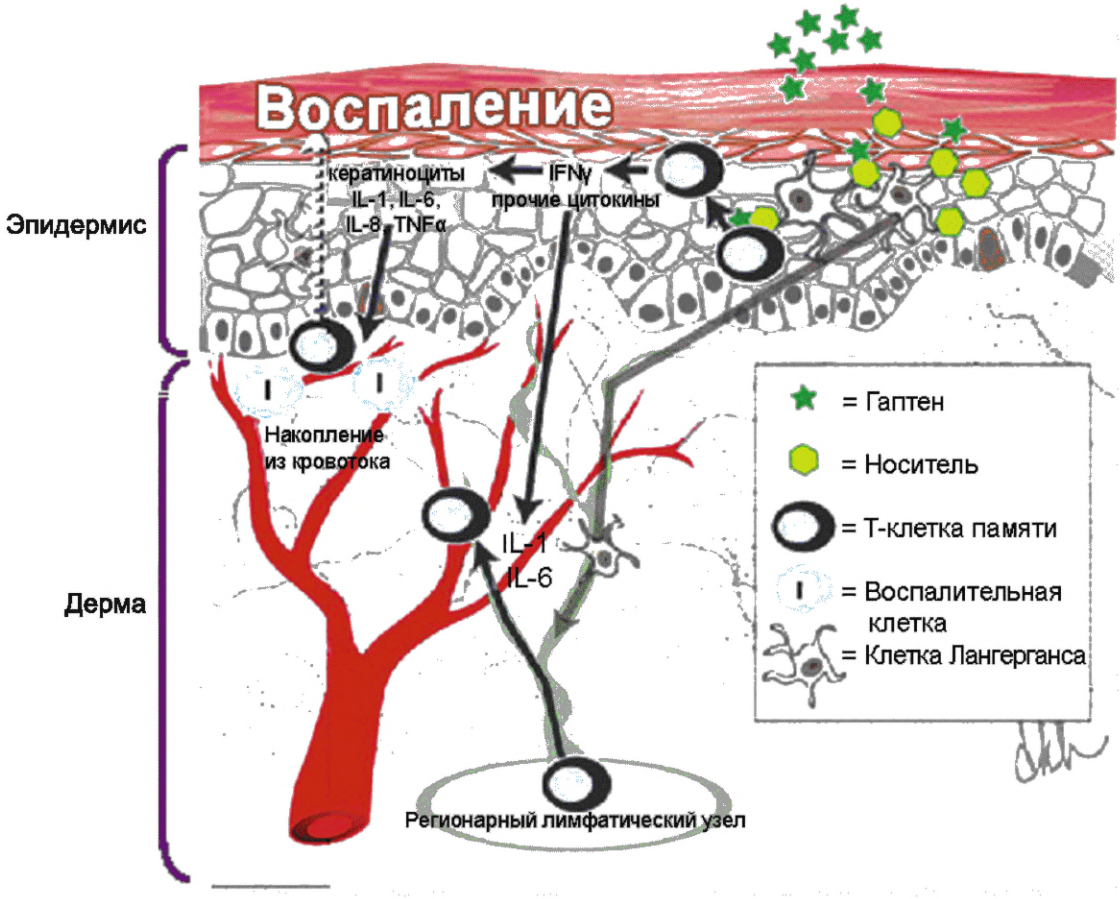

Рисунок 2 — Фаза развития сенсибилизации кожи

Обобщенные результаты первых работ в области изучения молекулярных основ сенсибилизации кожи были приведены в [30]. В дальнейшем круг знаний о механизме ее развития продолжил расширяться. В более поздних обзорных материалах на данную тему (см. [22], [46], [3], [9], [6]) последовательно упоминаются одни и те же факты и события, соответствующие ключевым этапам, которые предшествуют появлению сенсибилизации. Таковыми предлагается считать биодоступность кожи и ее метаболизм, формирование гаптенов (например, способность химической продукции вступать в реакцию с белками кожи), воспаление эпидермиса, инициируемое сигнальной системой кератиноцитов и/или дендритных клеток, активацию, созревание и миграцию дендритных клеток, а также пролиферацию Т-лимфоцитов (Т-клеток).

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПУТЬ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА ДЛЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ КОЖИ, ВЫЗВАННОЙ КОВАЛЕНТНЫМ СВЯЗЫВАНИЕМ С БЕЛКАМИ

Часть 2

Применение при классификации и разработке интегрированных подходов к комплексной оценке и испытаниям химической продукции. Серия по испытаниям и оценке № 168

An adverse outcome path for skin sensitization caused by covalent proteins binding. Part 2. Application in the classification and development of integrated approaches to the integrated assessment and testing of chemical products. Series on testing and assessment № 168

Дата введения — 2026—11—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

Настоящий стандарт содержит краткое изложение этапов предполагаемого AOP в отношении сенсибилизации кожи, вызванной ковалентным связыванием химической продукции с белками, включает положения, касающиеся возможности использования концепции AOP для классификации химической продукции и разработки соответствующих интегрированных подходов к ее испытаниям и оценке.

2 Общее представление структуры AOP

Доступный объем информации о структуре AOP применительно к сенсибилизации кожи как следствию ковалентного связывания химической продукции с белками стремительно вырос за последнее десятилетие, что позволяет описать его основные этапы следующим образом.

Этап 1. Вещество-мишень должно обладать биодоступностью (т. е. оно должно быть способно проникать через роговой слой эпидермиса).

Этап 2. Вещество-мишень должно относиться непосредственно к активным электрофильным веществам, превращаться метаболическим путем из химически неактивной субстанции (проэлектрофила) в активный метаболит либо в результате абиотического процесса, чаще всего окисления, превращаться из химически неактивной субстанции (проэлектрофила) в активное производное.

Этап 3. Местом воздействия на молекулярном уровне являются нуклеофильные участки-мишени (например, цистеиновые и лизиновые остатки) белков эпидермиса.

Этап 4. Исходное молекулярное событие представляет собой необратимое нарушение ковалентной структуры белков кожи (т. е. формирование гаптен-белкового комплекса или полного антигена). В условиях *in vivo* ответом на него является выработка специфичных Т-клеток памяти.

Этап 5. Биохимические пути негативного воздействия конкретных электрофильных веществ на молекулярные мишени изучены не достаточно хорошо, но чаще всего они предусматривают пути, связанные с формированием воспалительного процесса, включая явления митоген-активируемого протеинкиназного сигнального каскада и реакции на окислительный стресс, прежде всего в кератиноцитах и дендритных клетках.

Этап 6. Последствия воздействия на уровне клеток/ткани также изучены не полностью, но известно, что они включают в себя определенные эпидермальные реакции, а именно: 1) иммунное распознавание химических аллергенов кератиноцитами, специализированными эпидермальными дендритными клетками (клетками Лангерганса) и дермальными дендритными клетками; 2) ответ в виде экспрессии специфических поверхностных клеточных маркеров, таких как молекулы адгезии, хемокины и цитокины, включая IL-1β или IL-12p70, что, как правило, свидетельствует о созревании дендритных клеток.

Издание официальное

Этап 7. К реакциям на уровне органов относятся:

a) миграция дендритных клеток в лимфатические узлы, где они предъявляют молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) нативным Т-лимфоцитам (Т-клеткам), с

b) последующей дифференциацией Т-клеток и пролиферацией аллергенспецифичных Т-клеток памяти.

Этап 8. В роли органа-мишени (органов-мишеней) выступают кожа и регионарные лимфатические узлы, в роли клеточных популяций-мишеней — популяции клеток иммунитета, в первую очередь эффекторных Т-клеток.

Этап 9. Ключевой физиологической реакцией на данном этапе является появление сенсибилизации.

Этап 10. Ключевая реакция организма выражается в формировании воспаления после провоцирующего воздействия химического вещества в фазе развития. Подобный ответ объясняется стимулированием специфичных Т-клеток памяти, выработанных в фазе индукции.

Этап 11. Системными последствиями воздействия химического вещества у млекопитающих следует считать аллергический контактный дерматит у человека и контактную гиперчувствительность у грызунов соответственно.

Обобщенная информация, лежащая в основе качественной интерпретации АОР, приведена в таблице 1, в которой перечислены известные ключевые события, приведены ссылки на документы с подтверждающими экспериментальными данными по каждому такому событию, а также дана оценка уровня достоверности имеющихся научных свидетельств для этого события.

2.1 Схема промежуточных событий, связанных с AOP

Схема, иллюстрирующая пути и промежуточные этапы развития сенсибилизации кожи, представлена на рисунке 3. Объяснение пути взято из [36].



Рисунок 3 — Структурная схема путей сенсибилизации кожи

2.2 Перечень ключевых событий в составе AOP

Краткое описание качественной интерпретации AOP приведено в таблице 1, в которой указаны ключевые события, документальная база с подтверждающими экспериментальными данными по каждому такому событию, а также дана субъективная оценка преимущества научного обоснования для этого события.

Таблица 1 — Перечень ключевых событий в составе AOP

Ключевые события	Подтверждающие экспериментальные данные	Достоверность свидетельства
Ключевое событие 1) (исходное)	Место приложения действия — белки (см. [25], [60]). Ковалентное связывание с цистеином и/или лизином (см. [56], [58])	Высокая; общепризнанная концепция механизма токсического воздействия, сопровождающегося кожной сенсибилизацией; количественно подтверждается данными испытаний нескольких сотен наименований химической продукции
Ключевое событие 2)	Воспалительный ответ кератиноцитов (см. [45], [16])	Приемлемая; общепризнанное явление выделения цитокина IL-18 при сенсибилизации кожи
	Экспрессия генов элемента антиоксидантного ответа в кератиноцитах (см. [54], [18], [32], [44])	Высокая; общепризнанная концепция клеточных сигнальных путей, включающих элемент антиоксидантного/электрофильного ответа (ARE/EpRE); количественно подтверждается данными испытаний десятков соединений
Ключевое событие 3)	Активация дендритных клеток (см. [57], [50], [59], [48], [53])	Приемлемая; общепризнанное явление экспрессии адгезии клеток и костимулирующих молекул цитокинов при сенсибилизации кожи; описывается рядом показателей; данные испытаний десятков соединений обеспечивают в большей мере качественное, нежели количественное подтверждение
Ключевое событие 4)	Пролиферация Т-клеток (см. [51], [52])	Высокая; двадцатилетний опыт разработки и применения метода изучения реакции регионарных лимфатических узлов (LLNA); количественно подтверждается данными испытаний нескольких сотен химических веществ
Неблагоприятные последствия	Аллергический контактный дерматит у человека и контактная гиперчувствительность у грызунов соответственно	Общепризнанная; подтверждена руководствами по проведению испытаний и данными для морских свинок, а также соответствующими данными для человека

3 Формирование класса химической продукции, способной вызывать сенсибилизацию кожи

Как на национальном, так и на международном уровне проводятся работы по оценке опасностей или рисков, сопряженных с использованием химических веществ, в частности промышленных органических соединений для здоровья человека и состояния окружающей среды. Согласно всеобщему мнению, первым этапом процесса оценки является установление достоверной информации для каждого оцениваемого показателя. Если же, как это нередко случается, соответствующая информация оказывается неполной, для завершения процесса оценки требуются дополнительные данные. По ряду причин, включая временные и материальные ресурсы, благополучие животных, проведение испытаний, и в особенности испытаний *in vivo*, не во всех случаях может рассматриваться как оптимальный способ получения недостающей информации. Один из применяемых подходов к заполнению пробелов в данных в процессе оценки заключается в том, чтобы рассматривать близкородственную химическую продукцию как группу или класс химической продукции, а не как индивидуальную химическую продукцию (см. [55]).

В широком контексте класс химической продукции может рассматриваться как совокупность химической продукции, у которой физико-химические характеристики, токсикологические свойства с точки зрения воздействия на здоровье человека и/или состояние окружающей среды и/или характеристики

трансформации в окружающей среде подобны либо подчиняются одним и тем же закономерностям. Как следствие, класс химической продукции может быть представлен в виде матрицы, состоящей из химической продукции, относящейся к данному классу, и соответствующей ей номенклатуры химических характеристик и токсикологических показателей.

Критически важным этапом формирования классов химической продукции, способной вызывать сенсибилизацию кожи либо оказывать иное токсическое воздействие, является умение правильно определять «подобную» химическую продукцию (см. [49]). В идеальном случае подобие продукции должно основываться на общности механизма или способа ее воздействия; в основе такого механизма или способа могут лежать характерные химические реакции либо токсикологические свойства (см. [55]). Ключевым моментом при применении классов химической продукции для целей прогнозирования остается необходимость проверки предположения, действительно ли рассматриваемая химическая продукция может быть отнесена к соответствующей области применения или к соответствующему пространству прогнозирования (т. е. не выходят ли характеристики химической продукции за пределы, установленные для данного класса).

Предлагаемый AOP для сенсибилизации кожи, обусловленной ковалентным связыванием с белками, представляет собой прозрачную, основанную на закономерностях функционирования химических и биологических механизмов схему, описывающую этапы развития сенсибилизации, начиная с исходного молекулярного события и заканчивая последствиями, наблюдаемыми *in vivo*, и представляет основу для разработки или уточнения классов химической продукции (см. [55]). В то время как модель *in vivo* обеспечивает получение интегрированных выходных данных, система, реализуемая в условиях *in vitro*, представляет информацию лишь об отдельных событиях на определенном участке общего пути. С учетом данного обстоятельства для оценки показателей явлений, а именно сенсибилизации кожи, требуется проведение многократных испытаний *in vitro* по аналогии с концепцией методов определения токсичности в XXI веке (см. [61]), результаты которых затем должны тем или иным образом подвергаться обобщению (см. [62], [12]). Интуитивно понятно, что чем больше количество ключевых событий, для которых экспериментальным путем подтверждено соответствие признакам определенного класса химической продукции, тем весомее совокупность имеющихся свидетельств и доверительность прогнозируемых по методу аналогий последствий *in vivo* для химической продукции, относящейся к данному классу, испытания которой в условиях *in vivo* не проводились. Аналогично совокупность имеющихся свидетельств тем весомее и доверительность прогнозирования тем выше, чем большее количество химической продукции подвергнуто испытаниям на наличие ключевого события, характерного для соответствующего класса химической продукции.

Поскольку образование гаптен-белковых комплексов является исходным молекулярным событием при сенсибилизации кожи по причине связывания химической продукции с белками, информация о химической структуре вещества-мишени, отражающая его способность к образованию подобных аддуктов, может быть особенно полезна при классификации продукции по механистическому принципу. Кожные сенсибилизаторы, исходя из своей природы, обладают электрофильными свойствами и способны реагировать с нуклеофильными аминокислотными остатками. Поэтому возможность распознавания таких свойств на основе сведений о молекулярной структуре является первоочередным условием при проведении классификации.

Традиционно в органической химии (см. [64]) реакции между электрофильными и нуклеофильными химическими веществами принято делить на соответствующие механистические области: ацилирование, ароматическое нуклеофильное замещение S_NAr, бимолекулярное нуклеофильное замещение S_N2, реакцию Михаэля, образование оснований Шиффа и мономолекулярное нуклеофильное замещение S_N1 (см. [63], [19]). Исходя из значимости химической реакционной способности были предприняты попытки разделить результаты испытаний по методу LLNA по указанным механистическим областям (см. [65]). Тем не менее даже после разделения результатов испытаний по методу LLNA установлено, что сенсибилизация *in vivo* может наблюдаться после протекания некоторых, но не всех реакций, относящихся к конкретной механистической области. Так, например, даже в рамках одного и того же механизма протекания реакции (реакции Михаэля) исследуемые химические соединения не позволяют установить общие закономерности в части их сенсибилизирующей способности *in vivo* (см. [56]). В связи с этим возникло предложение о разделении классов химической продукции на отдельные подклассы, основанные на еще более тесном сходстве показателей химической продукции (см. [67]).

Большой объем информации, описывающей химические основы электрофильных реакций, был задокументирован в [19] и преобразован в набор признаков структур так называемой системы упрощенного представления молекул в строке ввода (Simplified Molecular Information Line Entry Structures — SMILES) (см. [68]) с использованием компьютерного программного инструментария ОЭСР QSAR Toolbox версии 2.2 (gost.e-ecolog.ru).

Поскольку формирование гаптен-белковых комплексов является исходным молекулярным событием при развитии сенсибилизации кожи, обусловленной химическим связыванием с белками, информация об интенсивности образования соответствующих аддуктов (получаемая экспериментально или путем расчетов) также представляет чрезвычайный интерес для целей отнесения химической продукции к соответствующему классу по механистическому признаку. В настоящее время существует ряд баз данных, содержащих сведения о результатах измерений реакционной способности веществ *in chemico*. Так, метод прямого анализа реакционной способности пептидов, описанный в [66], позволяет определять в процентах образование связей с использованием цистеина и лизина в качестве модельных нуклеофилов. Одна из самых крупных имеющихся баз представляет значения RC_{50}, характеризующие связывание с GSH (см. [69]). Это частный пример базы количественных данных по реакционной способности без малого 250 наименований химической продукции, структурные характеристики которой согласно SMILES отвечают критериям реакции присоединения Михаэля, охватывающей диапазон, равный почти 4 порядкам величины и доступной при работе с версией 2.2 инструментария ОЭСР QSAR Toolbox. Другая подобная база данных, которая включает в себя данные о более чем 150 наименованиях химической продукции, отвечающей критериям двухмерной структуры, необходимой для реакций замещения в соответствии с механизмом S_N2, в первую очередь для реакции S_N2 галоген — sp3C (см. [72]), и охватывает диапазон, превышающий 3 порядка величины, аналогично представлена в Toolbox. Не так давно в Toolbox была предусмотрена возможность работы с базой данных реакционной способности веществ, описывающей их реакции с GSH в соответствии с механизмом S_NAr.

Используя указанные данные, химическая продукция в пределах отдельных указанных выше механических областей может в дальнейшем быть выделена в соответствующие подобласти и механистические кластеры. Данные механические кластеры могут быть сформированы на основе общего реакционноспособного центра (т. е. места нуклеофильной атаки, активируемого широким перечнем заместителей). Так, в частности, алканы (C=C), выступающие как акцепторы Михаэля вследствие воздействия поляризующих групп, образуют механический кластер, при этом другой аналогичный кластер представляют алкины (C#C), которые поляризуются теми же заместителями. Важно иметь в виду, что любой механистический кластер может, в свою очередь, состоять из нескольких механистических групп. Эти механистические группы объединяют в себе близкородственную химическую продукцию. Например, бензохиноны и хинон-метиды принадлежат к одному механистическому кластеру, но к разным механистическим классам. Возможность определения кластеров и классов химической продукции на основе реакции присоединения Михаэля в виде системы построения профиля, описывающего их характеристики с точки зрения способности связываться с белками, также предусмотрена в версии 2.2 программного инструментария ОЭСР QSAR Toolbox (gost.e-ecolog.ru).

Перспективы дальнейших работ по классификации химической продукции с использованием сигнатур их биологической активности зависят от появления в общем доступе баз данных *in vitro*, обладающих достаточной глубиной и широтой охвата необходимой информации. В частности, получение экспериментальных данных об экспрессии генов Keap1/Nrf2/ARE/EpRE (например, результатов испытаний по методу KeratinoSens) и данных об активации дендритных клеток (например, результатов применения средств экспериментальной проточной цитофлуориметрии для экспрессии CD86 и CD54 в клетках THP-1 (h-CLAT) или экспрессии CD86 в клетках миелоидного лейкоза U937 при сенсибилизации кожи (MUSST)), могло бы позволить уточнять классификацию либо способствовать большей весомости имеющихся свидетельств и доверительности присваемого класса опасности. Можно сформировать концепцию оценки сенсибилизации кожи посредством классификации химической продукции, в которой область применимости классификации продукции для целей заполнения пробелов в имеющихся данных обусловлена частичным совпадением классов химической продукции, базирующихся на различных химических и токсикологических признаках, в основе каждого из которых лежат показатели, отражающие конкретные ключевые события в структуре AOP (см. рисунок 4).



Рисунок 4 — Последовательное построение профилей для формирования отдельного класса химической продукции, удовлетворяющей одновременно различным химическим и токсикологическим критериям

4 Интегрированные подходы к испытаниям и оценке (IANA) для кожных сенсибилизаторов

IATA — это концепция токсикологических исследований и оценки опасностей и рисков, предусматривающая комплексный учет различных данных химического и токсикологического характера в процессе принятия решений. Ее применение позволяет сократить количество химической продукции, подлежащей исследованиям для целей законодательного регулирования. IATA, как правило, является поэтапной и может представлять собой как многоуровневую, так и одноуровневую систему оценки. Отправной точкой в ее реализации служит базирующаяся на результатах анализа опасностей гипотеза о вероятном токсическом воздействии вещества мишени или класса химической продукции. Имеющиеся данные объединяются с данными компьютерного моделирования и биологических испытаний (выполняемых, например, с применением методов *in vitro* и омических методов) для выявления потребностей в дальнейшей информации, специфической для вещества-мишени или класса химической продукции. Концепция IATA ставит перед специалистами вопрос о том, каким образом должны обосновываться результаты конкретных исследований *in silico, in chemico* и/или *in vitro* либо иные данные, которые используются в рамках IATA. Введение понятия AOP обеспечивает их необходимыми средствами для получения такого обоснования.

Одними из первых попытку объединения данных о ключевых событиях AOP для сенсибилизации кожи, обусловленной ковалентным связыванием с белками, предприняли в [70]. Используя сведения о химической продукции 116 наименований, для которой уже были известны результаты исследований по методу LLNA, были изучены возможные схемы оценки экспериментальных данных на основе таких параметров, как: 1) разделение «1-октанол — вода»; 2) способность к реакциям с тиолом (т. е. деплеция (обеднение) цистеина); 3) прогнозные показатели согласно модели тканевого метаболизма (Tissue Metabolism Simulator) и 4) индукция передачи сигналов ARE *in vitro*, связанная с репортерным геном люциферазы. Данные исследований по методу LLNA были распределены согласно пяти различным уровням сенсибилизирующего воздействия (очень сильное, сильное, умеренное, слабое и отсутствие аллергенного действия). Аналогичному ранжированию, с использованием шкалы от 0 до 4, подверглись результаты исследований с применением альтернативных методов. Итоговая модель, оптимизированная в соответствии с оценкой конкурирующих параметров, продемонстрировала точность классификации на уровне приблизительно 88 %, чувствительность — 86 % и специфичность — 94 % в сравнении с результатами, полученными при применении метода LLNA. Наиболее существенный вклад в формирование указанной интегрированной модели внесли сведения о деплеции (обеднении) цистеина и активации путей ARE (явлениях, соответствующих двум различным ключевым событиям в структуре пути неблагоприятного исхода) (см. [70]).

Немного позднее еще одна попытка комплексного анализа данных о ключевых событиях в структуре AOP для сенсибилизации кожи, обусловленной ковалентным связыванием с белками, была предпринята согласно [32]. Для определения возможного положительного или отрицательного биологического ответа на сенсибилизирующее воздействие были использованы данные о химической активности веществ и профилировании экспрессии генов в линии клеток человеческой кожи HaCaT; затем на основе этих данных вещества разделялись по сенсибилизирующей способности на очень сильные/сильные (ES), умеренные (M), слабые (W) аллергены и не обладающие аллергенным действием (N), а также осуществлялась оценка соответствующих значений, которые могли бы быть получены по методу LLNA. Если сформулировать вкратце, химическая реакционная способность определялась путем измерения % деплеции (обеднения) глутатиона (GSH) в условиях *in chemico*. Три разновидности клеточных сигнальных путей (Keap1/Nrf 2/ARE/EpRE, ARNT/AhR/XRE и Nrf1/MTF/MRE), о которых известно, что они активируются сенсибилизирующими агентами, отслеживались путем измерения относительной распространенности одиннадцати генов, экспрессия каждого из которых контролируется при помощи какого-либо из этих путей. К генам, контролируемым Nrf2/ARE/EpRE, относятся: 1) NQO1, 2) AKR1C2, 3) тиоредоксин (TXN), 4) интерлейкин 8 (IL8), 5) альдегид-дегидрогеназа 3A (ALDH3A), 6) гемооксигеназа 1 (HMOX1), 7) ген мышечно-апоневротической фибросаркомы (MafF) и 8) GCLC. Ген, контролируемый XRE, — это 9) CYP1A1. К генам, контролируемым MRE, относятся: 10) металлотионеин 1 (MT1), 11) металлотионеин 2 (MT2). Экспрессия генов оценивалась по шкале 4+, 3+, 2+, + и «без изменений». Прогнозируемый коэффициент токсичности (Predicted Toxicity Index — PTI) представляет собой определяемую алгоритмическим путем оценку по шкале от 8 до 0. Поскольку информация о структуре применяемого алгоритма является закрытой, обратные расчеты позволяют предположить, что выставляемое количество баллов приблизительно на 2/3 зависит от реакционной способности химического вещества и на 1/3 от уровня экспрессии генов.

В процессе разработки описываемой модели были использованы данные о 39 исследованных веществах, тогда как сведения о 58 других соединениях послужили основой для ее последующей валидации. Соединения, которые были отнесены к категориям ES и M, были признаны аллергенными, а к категориям W и N — неаллергенными соответственно. Точность классификации в сравнении с результатами, полученными по методу LLNA, составила приблизительно 84 %, чувствительность — 81 %, специфичность — 92 %.

Наблюдение за деплецией (обеднением) глутатиона само по себе не обеспечивало достаточной точности, необходимой для распределения веществ по категориям в зависимости от их сенсибилизирующей способности. Использование данных о химической реакционной способности веществ в сочетании со сведениями о профиле экспрессии соответствующих генов (т. е. одновременное отслеживание двух ключевых событий в структуре AOP) позволило значительно повысить уровень достоверности прогнозов сенсибилизирующего воздействия.

Исследования [71] показали, что хотя экспериментальные данные *in vitro* на основе таких методов, как: 1) прямой анализ реакционной способности в отношении пептидов (Direct Peptide Reactivity Assay — DPRA), 2) KeratinoSens, 3) h-CLAT b 4) MUSST, представляют возможность по отдельности прогнозировать сенсибилизацию как при непосредственном воздействии на человека, так и при проведении исследований по методу LLNA, их совместное использование в значительной степени повышает достоверность прогнозирования, в особенности в отношении никеля. При наличии согласованности данных, полученных из четырех указанных источников, обеспечивается, таким образом, весомость имеющихся свидетельств и большая степень доверительности прогнозирования.

ОЭСР пока еще не разработаны соответствующие IATA для сенсибилизации кожи.

Приложение А
(обязательное)

Подтверждение принадлежности 1-хлор-2,4-динитробензола (ДНХБ) к веществам, способным вызывать сенсибилизацию кожи, с применением концепции пути неблагоприятного исхода (AOP)

Доступный объем информации AOP применительно к сенсибилизации кожи как следствию ковалентного связывания химических веществ с белками стремительно вырос за последнее десятилетие, что позволяет описать основные этапы данного AOP следующим образом:

Этап 1. Вещество-мишень должно обладать биодоступностью (т. е. оно должно быть способно проникать через роговой слой кожи эпидермиса).

Этап 2. Вещество-мишень должно относиться непосредственно к активным электрофильным веществам, превращаться метаболическим путем из химически неактивной субстанции (проэлектрофила) в активный метаболит либо в результате абиотического процесса, чаще всего окисления, превращаться из химически неактивной субстанции (проэлектрофила) в активное производное.

Этап 3. Местом воздействия на молекулярном уровне являются нуклеофильные участки-мишени (например, цистеиновые и лизиновые остатки) белков эпидермиса.

Этап 4. Исходное молекулярное событие представляет собой необратимое нарушение ковалентной структуры белков кожи (т. е. формирование гаптен-белкового комплекса или полного антигена). В условиях *in vivo* ответом на него является выработка специфичных Т-клеток памяти.

Этап 5. Биохимические пути негативного воздействия конкретных электрофильных веществ на молекулярные мишени изучены не достаточно хорошо, но чаще они включают пути, связанные с формированием воспалительного процесса, в том числе явления митоген-активируемого белкового сигнального каскада и реакции на окислительный стресс, прежде всего в кератиноцитах и дендритных клетках.

Этап 6. Последствия воздействия на уровне клеток/ткани также изучены не полностью, но известно, что они включают в себя определенные эпидермальные реакции, а именно: 1) иммунное распознавание химических аллергенов кератиноцитами, специализированными эпидермальными дендритными клетками (т. е. клетками Лангерганса) и 2) дермальными дендритными клетками. Ответ в виде экспрессии специфических поверхностных клеточных маркеров, таких как молекулы адгезии, хемокины и цитокины, включая IL1β или IL-12p70, как правило, считается свидетельством созревания дендритных клеток.

Этап 7. К реакциям на уровне органов относятся:

a) миграция дендритных клеток в лимфатические узлы, где они предъявляют молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) нативным Т-лимфоцитам (Т-клеткам), с

b) последующей дифференциацией Т-клеток и пролиферацией аллергенспецифичных Т-клеток памяти.

Этап 8. В роли органа-мишени (органов-мишеней) выступают кожа и регионарные лимфатические узлы; в роли клеточных популяций-мишеней — популяции клеток иммунитета, в первую очередь Т-клеток.

Этап 9. Ключевым физиологическим ответом на данном этапе является появление сенсибилизации.

Этап 10. Ключевая реакция организма выражается в формировании воспаления после провоцирующего воздействия химического вещества в фазе развития. Подобный ответ объясняется стимулированием специфичных Т-клеток памяти, ранее выработанных в фазе индукции.

Этап 11. Системными последствиями воздействия химического вещества у млекопитающих следует считать аллергический контактный дерматит у человека и контактную гиперчувствительность у грызунов соответственно.

К конкретным доказательствам сенсибилизирующей способности ДНХБ на перечисленных этапах AOP относятся:

Этап 1. С учетом значения коэффициента распределения «октанол — вода» logKow = 2,40, небольших размеров молекул и умеренной летучести ДНХБ приведенная в литературных источниках информация не дает оснований полагать, что проникновение через кожу или биодоступность могут являться смягчающим фактором при развитии сенсибилизации под действием данного вещества.

Этап 2. Хотя ДНХБ усиливает экспрессию цитохромов Р450 (см. [32]), экспериментально полученные доказательства того, что метаболизм может являться смягчающим фактором при развитии сенсибилизации под действием ДХНБ, отсутствуют.

ДНХБ представляет собой типичный электрофил, поддающийся ароматическому нуклеофильному замещению (SnAr) и относящийся к области применимости механизма SnAr (см. [19]). В соответствии с [40] данные, полученные для ДНХБ, свидетельствуют о его высокой реакционной способности при применении различных методов in chemico (см. таблицу А.1).

. Этапы 3 и 4. Согласно [23] установлено, что ДНХБ преимущественно (в пять раз чаще) связывается с клеточными, а не сывороточными белками и что такие реакции не являются специфическими на белок. Клеточные белки считаются тиолонасыщенными, а сывороточные — тиолоненасыщенными белками. В соответствии с [32] 75 % ДНХБ связывается с глутатионом после его 24-часовой деплеции (обеднения) (т. е. потери свободных тиолов).

Таблица А.1 — Сводная информация об определении реакционной способности ДНХБ *in chemico*

ДНХБ способен реагировать с множеством нуклеофилов. Относительные показатели его реакционной способности по сравнению с другими химическими веществами, ранее исследованными в соответствии с тем же протоколом, однозначно свидетельствуют о его высоком реакционном потенциале

Идентиф. №	Нуклеофил	Параметр, единица измерений	Значение	Время, с; pH; растворитель	Время реакции, соотношение нуклеофил: электрофил	Библиографический источник	Метод
26	Глутатион (GSH)	t1/2(GSH) мин	200	22; 7; ЭДТА-буферный раствор	Макс. 16 ч; 50:1	[73]	ВЭЖХ-УФ (210—300 нм)
596	Cor1C-420 (AcNKKCDLF)	RC50(Cor1) мМ	0,07	37; 7,5; фосфатный буферный раствор (ФБР) 0,1 М	150 мин; 1:10	[70]	УФ (неизрасходованный цистеин после реакции с монобромобиманом; 385 нм возб., 480 эмисс.)
735	Глутатион	krel (GSH): CDNB 1 = = CDNB	1,00E+00	25; 7.5; ФБР 0,1 М	15 мин; 1:1	[74]	УФ (GSH-конъюгат). k отн. для 1-хлор-2,4-динитро-бензола
855	4-нитробензилпиридин (NBP)	k1 (NBP) $мин^{-1}$	−2,71	80; 2-бутанон	60 мин; 30:1	[75]	УФ (~560 нм)
961	Пиперидин	k (пиперидин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,15E+00 0,06	25	—	[76]	—
962	Пиперидин	k (пиперидин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	9,20E-01 –0,04	25; этанол	—	[76]	—
1043	Натрия метилат	k (Метилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,51E+00 0,18	25; метанол	—	[76]	—
1044	Натрия метилат	k (Метилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,11E-01 –0,95	0; метанол	—	[76]	—
1171	Глутатион	k (GSH) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	0,72-0,14	22; 7; ЭДТА-буферный раствор	Макс. 16 ч; 50:1	[73]	—
1172	Глутатион	k (GSH) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	0,42-0,38	25; 6,5; ФБР 0,1 М	15 мин; 1:1	[74]	—
1173	Глутатион	k(GSH) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	3,8 0,58	25; 7,5; ФБР 0,1 М	15 мин; 1:1	[74]	УФ (GSH-конъюгат)
1174	Глутатион	k(GSH) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	0,58	25; 7,5; ФБР 0,1 М	15 мин; 1:1	[74]	Уст. по pH 6.5: k2(уст. pH 7,5) = = 10 · k2(эксп. pH 6,5); УФ

Продолжение таблицы А.1

Идентиф. №	Нуклеофил	Параметр, единица измерений	Значение	Время, с; pH; растворитель	Время реакции, соотношение нуклеофил: электрофил	Библиографический источник	Метод
1408	Натрия этилат	k(Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	4,95E+00 0,69	25; этанол	—	[76]	—
1409	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	3,90E-01 −0,41	0; этанол	—	[76]	—
1410	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,05 0,02	10; этанол	—	[76]	—
1411	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,63 0,21	15; этанол	—	[76]	—
1412	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	2,90 0,46	20; этанол	—	[76]	—
1413	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	2,98 0,47	25; этанол	—	[76]	—
1414	Натрия этилат	k (Этилат) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	3,26 0,51	15; этанол	—	[77]	—
1597	Анилин	k (Анилин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,79E-02 −1,75	50; этанол	—	[76]	—
1598	Анилин	k (Анилин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	9,75E-03 −2,01	35; этанол	—	[76]	—
1599	Анилин	k (Анилин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	2,13E-02 −1,67	35; этанол	—	[76]	—
1600	Анилин	k(Анилин) $М^{-1}$ $мин^{-1}$	1,93E-03 −2,71	50; этанол	—	[76]	—
1723	Анилин	DPE(Анилин) % деплеции (обеднение)	>90	100; этанол	2 ч	[77]	Метод: паровая баня; >90 = = высвобождение более 90 % галогена
2155	Глутатион	DP(GSH): Gerberic % деплеции (обеднение)	43,6	25; 7,4; ФБС	15 мин 1:100	[78]	0,2 GSH : 20 мМ Эл; ОФ-ВЭЖХ (производная GSH/ GSSH с ДНФБ; [47])

Окончание таблицы А.1

Идентиф. №	Нуклеофил	Параметр, единица измерений	Значение	Время, с; pH; растворитель	Время реакции, соотношение нуклеофил: электрофил	Библиографический источник	Метод
2240	Цисцеин-пептид (Cys-P.) (AcRFAACAA)	DP(Cys-P.): Natsh % деплеции (обеднение)	100	30; ФБС 20 мМ	24 ч; 1:100	[79]	ВЭЖХ-ДМД 214 нм
2684	Cor1C-420 (AcNKKCDLF)	DP (Cor1) % деплеции (обеднение)	>98	37; 7,5; ФБС 0,1 М	31 ч; 1:10	[70]	—
2766	Аргинин-пептид (Arg-P.) (AcFAARAA)	DP(Arg-P.): Aleksic % деплеции (обеднение)	−1,73	37; 10; Карбонатный буфер 50 мМ	24 ч 1:100	[80]	ЖХ-МС/МС (электроспрей); с AcFAGAGA в качестве внутреннего стандарта
2948	Цистеин	Аддукт (Cys) (да/нет)	Да	Водный раствор NaOH	10 мин; 1:1	[81]	Комнатная температура; титрование спиртовым раствором йода

Как отмечают [15] и [41], взаимодействие ДНХБ с дендритными клетками (ДК) происходит из-за деплеции (обеднения) глутатиона.

Этап 5. Предполагается, что в созревании ДК должны быть задействованы клеточные сигнальные пути, такие как MAPKs и NF-kappaB (кВ). Пути JNK и p38 MAPK подтверждают первичную активность при проявлении различного рода внешних стрессовых факторов, включая окислительный стресс и высвобождение воспалительных цитокинов. Путь ERK1/2 связан с регулированием пролиферации клеток. Доказано, что в образцах человеческих ДК, культивируемых из периферийных моноцитов CD14+, воздействие ДНХБ приводит к активации сигнальных путей p38 и JNK (см. [4]). В [33] убедительно продемонстрировали значимость сигнального пути p38 MAPK в процессе активации ДНХБ ДК-подобных клеток, представляющих линию моноцитарного лейкоза человека THP-1; впоследствии данные наблюдения были подтверждены в [31]. Кроме того, пути p38 MAPK и ERK1/2 могут быть активированы тринитрохлорбензолом (ТНБХ) (соединением, очень похожим на ДНБХ); в этом случае активация может быть ингибирована при помощи тиолового антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина, который предотвращает гаптенизацию (см. [15]).

В качестве вторичных посредников, контролирующих широкий спектр системных последствий, выступают активные формы кислорода. В частности, ими обеспечивается контроль над созреванием ДК за счет фосфорилирования белков после окисления тиола (т. е. цистеина). В [41] приведен пример активации методом «доза — эффект» с фосфорилированием путей p38 MAPK и JNK и ингибированием пути ERK1/2 при воздействии ДНХБ. Взаимосвязь между окислительным стрессом и активацией p38 MAPK, а также ингибированием ERK1/2 была продемонстрирована путем предварительной обработки антиоксидантом N-ацетил-L-цистеином.

Этап 5. Кератиноциты представляют собой наиболее многочисленную разновидность клеток в составе кожного эпидермиса. Известно, что они являются первичными пунктами метаболизма в структуре кожи и играют важную роль в активации эпителиальных ДК.

На примере кератиноцитов человека (клеток HaCaT) согласно [32] провели оценку отдельных генов, связанных с тремя видами сигнальных путей в клетках (Keap1/Nrf 2/ARE/EpRE, ARNT/AhR/XRE и Nrf1/MTF/MRE), активация которых, как считается, происходит при воздействии сенсибилизирующих агентов. Если коротко, была определена относительная распространенность одиннадцати генов, экспрессия каждого из которых контролируется при помощи какого-либо из этих путей. К генам, контролируемым Nrf2/ARE/EpRE, относятся: 1) NQO1, 2) AKR1C2, 3) тиоредоксин (TXN), 4) интерлейкин 8 (IL8), 5) альдегид-дегидрогеназа 3А (ALDH3A), 6) гемоксигеназа 1 (HMOX1), 7) ген мышечно-апоневротической фибросаркомы (MafF), а также 8) GCLC. Ген, контролируемый XRE, — это 9) CYP1A1. К генам, контролируемым MRE, относятся: 10) металлотионеин 1 (MT1), 11) металлотионеин 2 (MT2). Экспрессия генов оценивалась по шкале 4+, 3+, 2+, + и «без изменений». По данным отчета [32] для ДНХБ уровень экспрессии составил: NQO1 = 4+; AKR1C2 = 2+; TXN = без изменений; IL8 = +; CYP1A1 = +; ALDH3A = без изменений; HMOX = без изменений; MafF = +; GCLC = без изменений; MT1A = без изменений и MT2A = 2+. Микроматричный анализ обработанных ДНХБ клеток HaCaT (см. [44]) показал аналогичные результаты.

Метод KeratinoSens (см. [18]) предназначен для исследования зависимости «доза — эффект» (как правило, на трех параллельно обрабатываемых образцах для двенадцати концентраций) с целью выявления существенного повышения активности генов в условиях *in vitro* с использованием репортерного гена люциферазы, контролируемого одиночной копией ARE-элемента человеческого гена AKR1C2 в виде стабильной вставки в кератиноциты человека, принадлежащие к клеточной линии HaCaT. В соответствии со стандартной операционной процедурой (см. [18]) получены необходимые экспериментальные данные и определены значения средней максимальной индукции активности генов (Imax) и средней концентрации вещества, вызывающей повышение активности генов на 50 % относительно контрольных значений (EC1.5). Последние получены путем линейной экстраполяции значений, находящихся выше и ниже порога индукции (как при определении значения EC3 для метода LLNA). Проведенные далее меж- и внутрилабораторные исследования сенсибилизирующей способности ДНХБ по методу KeratinoSens [34] свидетельствуют о повторяемом и воспроизводимом характере результатов (см. таблицу А.2).

Таблица А.2 — Результаты меж- и внутрилабораторных исследований ДНХБ с применением метода KeratinoSens

Лаборатория	Imax (кратная индукция)	EC 1,5, мкМ
A (по данным прошлых наблюдений)	14,8	2,5
A	12,9	3,3
B	4,3	2,1
C	12,2	3,0
D	19,5	1,4
E	15,6	2,1

Культуры клеточной линии кератиноцитов человека NCTC 2544 подвергались воздействию ДНХБ с последующей оценкой клеточно-ассоциированного IL-18 спустя 24 ч после начала такого воздействия (см. [16]). Внутриклеточное содержание IL-18 оценивалось путем специальных процедур иммуноферментного анализа (ИФА)

типа «сэндвич»; результаты были приведены как содержание из расчета пг/мг общего внутриклеточного белка. Воздействие ДНХБ приводит к существенному увеличению выработки IL-18 согласно зависимости «доза — эффект»; тем не менее это увеличение выглядит достаточно умеренным по сравнению с другими, более изученными аллергенами. Факт выработки IL-18 клетками HaCaT и HEL-30 при воздействии ДНХБ подтверждается данными, приведенными в [45].

Этап 6. Дендритные клетки для исследований *in vitro* могут быть получены из человеческих моноцитов или из прогениторных клеток пуповинной крови человека. Кроме того, характеристиками, присущими дендритным клеткам, обладают клетки некоторых иммортализованных линий. Незрелые ДК приобретают фенотип, отличительной особенностью которого является снижение экспрессии Е-кадгерина и повышение экспрессии отдельных поверхностных клеточных маркеров (например, CD54 и CD86) с одновременным усилением секреции воспалительных цитокинов (например, IL1β, IL-8 и TNFα).

При использовании длительного времени экспозиции (24 и 48 ч) для ДК, полученных из моноцитов, воздействие ДНХБ, как указано в [5], вызывает существенное усиление экспрессии поверхностных биомаркеров CD54, CD86 и HLA- DR.

Согласно [42] дендритные клетки из периферических моноядерных клеток крови отвечают на воздействие ДНХБ активацией костимуляторной молекулы CD86, молекулы межклеточной адгезии CD54 и антигена HLA-DR.

В соответствии с [7] сообщается об активации CD86 и интернализации молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса II в ДК-подобных клетках линии моноцитарного лейкоза человека THP-1 после 24-часовой обработки ДНХБ; при этом, по их наблюдениям, эффект активации усиливался в случае, когда одновременно с ДНХБ применялся гамма-интерферон.

У ДК, полученных из периферических моноцитов CD14+, воздействие ДНХБ вызывает экспрессию CD86 и выработку цитокина IL-8 по пути p38 MAPK [41].

У ДК из клеток пуповинной крови человека CD34+ воздействие ДНХБ вызывает экспрессию CD40 и HLA-DR и выработку IL-8 для всех из них вне зависимости от пути NF-κB (см. [1]).

Доказано, что при использовании клеток ДК-подобной миелоидной линии U937 для проведения исследований по методу MUSST воздействие ДНХБ вызывает экспрессию CD86 при дозе, не являющейся цитотоксичной (см. [37]).

При использовании клеток линии HTP-1 для проведения исследований по методу h-CLAT было доказано, что воздействие ДНХБ вызывает увеличение экспрессии CD86 и молекул поверхностной клеточной адгезии CD54 на 150 % и 200 % соответственно (см. [39], [35]). Сообщают о значениях в размере 2,30 и 2,66 мкг/мл для CD86 EC150 и CD54 EC200 соответственно, достаточно высоких по сравнению со средними показателями группы, включающей в общей сложности 70 сенсибилизаторов, для которых были установлены такого рода значения.

В основу метода VITOSENS положено наблюдение (при помощи метода ПЦР в реальном времени) за дифференциальной экспрессией модулятора цАМФ-чувствительных элементов (CREM) и рецептора моноцитарного хемотоксического белка-1 (CCR2) в ДК CD34+ после 6, 11 и 24 ч экспозиции (см. [24]). Разница экспрессии генов была определена как кратные изменения (т. е. как отношения уровней экспрессии для проб, подвергнутых воздействию, и контрольных проб растворителя) при воздействии ДНХБ, приводящем к существенному увеличению значений экспрессии как для CREM, так и для CCR2.

Установлено, что воздействие ДНХБ на клетки THP-1 усиливает экспрессию двух Nrf2-зависимых ARE-чувствительных генов, гемоксигеназы-1 (HMOX1) и NAD(P)H:хинон оксиредуктаза 1 (NQO1); ингибированную преинкубацией с N-ацетил-L-цистеном экспрессию CD86, а также экспрессию таких генов, как HMOX1 и NQO1 (см. [2]).

Этап 7а. Интернализация поверхностных молекул ГКГС класса II путем эндоцитоза антиген-презентирующими клетками рассматривается как важная стадия выработки антигенов. Согласно [29] были изучены возможность использования в исследовательских целях явления эндоцитоза веществ, вызывающих контактную сенсибилизацию, дендритными клетками мышей. Если коротко, ДК, находящиеся в суспензии эпидермальных клеток, помечались анти-ГКГС-класс-II моноклональными антителами. Затем посредством проточной цитофлуориметрии с использованием вторичных реагентов, помечаемых чувствительными к pH флуорохромами, определялись различия в средней интенсивности флуоресценции для интернализованных меток. Эндоцитоз комплексов на основе ГКГС при попадании в кислую среду (в лизосомы) приводил к снижению интенсивности флуоресценции, в то время как в случае интернализации в компартментах с меньшей кислотностью (в иммуносомах) уровень флуоресценции сохранялся. Воздействие DNHB, 2,4-динитро-1-фторбензола и THXB обеспечивало флуоресценцию на уровне, в 1,7—2 раза превышающем интенсивность флуоресценции в клетках, обработанных ДМСО.

Согласно [17] были выполнены измерения плотности дендритных клеток в ухе мыши с интервалом в 4 и 17 ч после воздействия 1 %-ного ДНХБ. Кроме того, было определено количество ДК, появляющихся в лимфатическом узле, с интервалом 24, 48 и 72 ч после аналогичного воздействия, и в обоих случаях констатировали существенное увеличение числа ДК.

Трехмерные модели реконструированного человеческого эпидермиса (reconstituted human epidermal — RHE) представляют собой человеческие клетки, выращенные на мембране на поверхности раздела воздушной и жидкостной сред. Данный метод сокультивирования клеточного материала позволяет выращивать многослойную культуру клеток с образованием контактов между отдельными клетками, что делает ее похожей на соответствующие фрагменты кожи человека. При использовании моделей RHE, в состав которых были включены ДК CD34+, поверхностное нанесение ДНХБ вызывало экспрессию CD86 в этих ДК [20].

Модель кожи, состоящая из кератиноцитов, фибробластов и дендритных клеток, подвергалась воздействию ДНХБ, что приводило к экспрессии CD86 и выбросу цитокинов (см. [43]).

Этап 7b. В [21] сообщается о 6-кратном увеличении насыщенности клетками лимфатических узлов после воздействия 0,25%-ного раствора ДНХБ, главным образом в связи с пролиферацией Т-клеток CD4+ и CD8+.

В [23] сообщается об эффектах, наблюдавшихся in vivo, в лимфоидной ткани мышей при воздействии ДНХБ и очень похожего на него соединения — ДНФБ. В однопроцентной концентрации воздействие ДНХБ приводило к заметному повышению иммунной активности и 5-кратному повышению клеточной насыщенности лимфоидной ткани в сочетании с 6-кратным увеличением поглощения тритилированного тимидина. Уменьшение концентрации ДНХБ до 0,1 % явилось следствием пропорционального изменения активности. Образцы клеток лимфатических узлов, взятые у подопытных мышей после воздействия ДНХБ и ДНФБ, характеризовались повышенными уровнями содержания цитокина Th1 IFN-γ и пониженными уровнями содержания цитокинов Th2 IL-5 и IL-10, а также митоген-индуцированного IL-4.

Этап 8. Как в [13], так и в [23] отмечается высокая способность ДНХБ вызывать сенсибилизацию при проведении экспериментов по методу LLNA.

Этап 11. В [28] сообщается, что ДНХБ проявляет сенсибилизирующие свойства при воздействии на кожу in vivo.

Тест максимизации на морских свинках (Guinea Pig Maximisation Test — GPMT) представляет собой высокочувствительный метод с применением как внутридермального, так и поверхностного способа обработки и закрытой провокационной пробы. ДНХБ приводит к положительным результатам при проведении провокационной пробы GPMT уже при концентрации 0,1 %, что располагает его в верхних позициях перечня сенсибилизирующих веществ, исследованных при помощи метода GPMT.

Тест Бюлера на морских свинках предусматривает повторяющееся закрытое поверхностное нанесение вещества при проведении индукции и закрытую провокационную пробу. Результаты применения теста Бюлера для ДНХБ — положительные.

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

Структура настоящего стандарта			Структура международного документа	
Разделы	Пункты	Перечисления	Пункты	Перечисления
Введение			Общая информация	—
Раздел 1			Основные положения	
Раздел 2		—	Общее представление структуры AOP	—
	2.1	—	Схема промежуточных событий, связанных с AOP	—
	2.2	—	Сводка ключевых событий в составе AOP	—
Раздел 3		—	Формирование химических категорий для классификации веществ по способности вызывать сенсибилизацию кожи	—
Раздел 4		—	Интегрированные подходы к испытаниям и оценке (IATA) для исследования веществ, вызывающих сенсибилизацию кожи	—
Приложение А		—	Приложение 1	—
Библиография			Ссылки	

Библиография

[1] Ade, N., Antonios, D., Kerdine-Romer, S., Boisleve, F., Rousset, F. and Pallardy, M. 2007. NF-kappaB plays a major role in the maturation of human dendritic cells induced by $NiSO_4$ but not by DNCB. Toxicol. Sci. 99: 488—501 (Важная роль NF-kappaB в созревании дендритных клеток человека при воздействии $NiSO_4$, но не ДНХБ)

[2] Ade, N., Leon, F., Pallardy, M., Pfeiffer, J.L., Kerdine-Romer, S., Tissier, M.H., Bonnet, P.A., Fabre, I., and Ourlin, J.C. 2009. HMOX1 and NQO1 genes are upregulated in response to contact sensitizers in dendritic cells and THP-1 cell line: role of the Keap1/Nrf2 pathway. Toxicol. Sci. 107: 451—460 (Активация генов HMOX1 и NQO1 в дендритных клетках и клеточной линии THP-1 как ответ на воздействие контакных аллергенов. Роль сигнального пути Keap1/Nrf2)

[3] Aeby, P., Ashikaga, T., Bessou-Touya, S. Schapky, A., Geberick, F., Kern, P., Marrec-Fairley, M., Maxwell, G., Ovigne, J.-M., Sakaguchi, H., Reisinger, K., Tailhardat, M., Martinozzi-Teisser, S. and Winkler, P. 2010. Identifying and characterizing chemical skin sensitizers without animal testing; Colipa's research and methods development program. Toxicol. In Vitro 24: 1465—1473 (Определение и характеризация химических кожных сенсибилизаторов без проведения экспериментов на животных. Исследования и разработка методов в рамках программы Colipa)

[4] Aiba, S., Manome, H., Nakagawa, S., Mollah, Z.U., Mizuashi, M., Ohtani, T., Yoshino, Y., Tagami, H. 2003. p38 Mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinases play distinct roles in the activation of dendritic cells by two representative haptens, NiCl2 and 2,4- dinitrochlorobenzene. J. Invest. Dermatol. 120: 390—399 (Специфические роли митогенактивируемой протеинкиназы и внеклеточных сигналрегулируемых киназ в активации дендритных клеток двумя репрезентативными гаптенами, $NiCl_2$ и 2,4-динитрохлорбензолом)

[5] Aiba, S., Terunuma, A., Manome, H. and Tagami H. 1997. Dendritic cells differently respond to haptens and irritants by their production of cytokines and expression of co-stimulatorymolecules. Euro. J. Immunol. 27: 3031—3038 (Различающаяся реакция дендритных клеток на воздействие гаптенов и раздражающих веществ с точки зрения выработки ими цитокинов и экспрессии костимуляторных молекул)

[6] Adler, S., Basketter,D., Creton, s. Pelkonen, O., van Benthem, J., Zuang, V., Ejner-Andersen, K., Angers- Loustau A., Aptula, A. Bal-Price, A., Benfenati, E. Bernauer, U., Bessems, J. Bois. F.Y., Boobis, A. Brandon, E., Bremer, S., Broschard, T. Casati, S. Coecke, S. Corvi, R., Cronin, M., Daston, G., Dekant, W., Felter, S., Grignard, E., Gundert-Remy, U., Heinonen, T., Kimber, I., Kleinjans, J., Komulainen, H., Kreiling, R., Kreysa, J., Batista Leite, S., Loizou, G., Maxwell, G., Mazzatorta, P. Munn, S., Pfuhler, S., Phrakonkham, P., Piersma, A., Poth, A., Prieto, P., Repetto, G., Rogiers, V., Schoeters, G., Schwarz, M., Serafimova, R., Tahti, H., Testai, E., van Delft, J. van Loveren, H., Vinken, M., Worth, A. and Zaldivar, J.-M. 2011. Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010. Arch. Toxicol. 85: 367—485 (Альтернативные (без использования подопытных животных) методы испытаний косметики. Текущее состояние и перспективы на будущее)

[7] Ashikaga, T., Hoya, M., Itagaki, H., Katsumura, Y. and Aiba, S. 2002. Evaluation of CD86 expression and MHC class II molecule internalization in THP-1 human monocyte cells as predictive endpoints for contact sensitizers. Toxicol. In Vitro 16: 711–716 (Оценка уровня экспрессии CD86 и интернализации молекул ГКГС класса II в человеческих моноцитах THP-1 как прогнозных показателей контактных сенсибилизаторов)

[8] Ball, N., Cagen, S., Carrillo, J-C., Certa, H., Eigler, D., Emter, R., Faulhammer, F., Garcia, C., Graham, C., Haux, C., Kolle, S.N., Kreiling, R., Natsch, A., Mehling, A. 2011. Evaluating the sensitisation potential of surfactants: Integrating data from the local lymph node assay, guinea pig maximization test, and *in vitro* methods in a weight-of-evidence approach, Reg. Toxicol. Pharmacol., doi: 10.1016/j.yrtph.2011.05.007 (Оценка сенсибилизирующей способности поверхностно-активных веществ. Обобщение данных, полученных по методу изучения реакции регионарных лимфатических узлов, при помощи теста максимизации для морских свинок, а также с применением соответствующих методов *in vitro* на основе подхода с вынесением оценки по совокупности полученных свидетельств)

[9] Basketter, D.A. and Kimber, I. 2010. Contact hypersensitivity. In: McQueen, C.A. (ed) Comparative Toxicology Vol. 5, 2nd Ed. Elsevier, Kidlington, UK, pp. 397—411 (Контактная гиперчувствительность)

[10] Basketter, D.A., Gerberick, G.F., Kimber, I. and Loveless, S.E. 1996. The local lymph node assay: a viable alternative to currently accepted skin sensitisation tests. Food Chem. Toxicol. 34: 985—997 (Метод изучения реакции регионарных лимфатических узлов — жизнеспособная альтернатива применяемым тестам на кожную сенсибилизацию)

[11] Basketter, D.A., Lea, L.J., Cooper, K.J., Dickens, A., Stocks, J., Pate, I. 1999. Thresholds for classification as a skin sensitiser in the local lymph node assay: a statistical evaluation. Food Chem. Toxicol. 37:1167—1174 (Пороговые значения для классификации химической продукции по способности вызывать сенсибилизацию кожи с применением метода изучения реакции регионарных лимфатических узлов. Статистическая оценка)

[12] Basketter, D.A. and Kimber, I. 2009. Updating the skin sensitisation in vitro data assessment paradigm in 2009. J. Appl. Toxicol. 29: 545—550 (Обновленная парадигма оценки данных о сенсибилизации кожи *in vitro* по состоянию на 2009 г.)

[13] Basketter, D. A., Dearman, R. J., Hilton, J. and Kimber, I. 1997. Dinitrohalobenzenes: evaluation of relative skin sensitisation potential using the local lymph node assay. Contact Dermatitis 36, 97—100 (Динитрогалобензолы: оценка относительного потенциала сенсибилизации кожи с использованием анализа местных лимфатических узлов)

[14] Boobis, A.R., Doe, J.E., Heinrich-Hirsch, B., Meek, M.E., Munn, S., Ruchirawat, M., Schlatter, J., Seed, J. and Vickers, C. 2008. IPCS framework for analyzing the relevance of the non-cancer mode of action for humans. Crit. Rev. Toxicol. 38: 87—96 (Применение схемы IPCS MOA для анализа неканцерогенного механизма воздействия на организм человека)

[15] Bruchhausen, S., Zahn, S., Valk, E., Knop, J. and Becker, D. 2003. Thiol antioxidants block the activation of antigen-presenting cells by contact sensitizers. J. Invest. Dermatol. 121:1039—1044 (Тиоловые антиоксиданты, блокирующие активацию антигенпрезентирующих клеток контактными сенсибилизаторами)

[16] Corsini, E., Mitjans, M., Galbiati, V., Lucchi, L., Galli, C.L. and Marinovich, M. 2009. Use of IL-18 production in a human keratinocyte cell line to discriminate contact sensitizers from irritants and low molecular weight respiratory allergens. Toxicol. In Vitro 23: 769—796 (Использование данных о выработке IL-18 в клеточной линии кератиноцитов человека для различения веществ, вызывающих контактную сенсибилизацию, раздражающих веществ и респираторных аллергенов с низкой молекулярной массой)

[17] Cumberbatch, M., Clelland, K., Dearman, R.J. and Kimber, I. 2005. Impact of cutaneous IL-10 on resident epidermal Langerhans' cells and the development of polarized immune responses. J. Immunol. 175: 43—50 (Влияние кожного IL-10 на резидентные эпидермальные клетки Лангерганса и развитие поляризованного иммунного ответа)

[18] Emter R., Ellis, G. and Natsch, A. 2010. Performance of a novel keratinocyte-based reporter cell line in screen skin sensitizers in vitro. Toxicol. Appl. Pharmacol. 245: 281—290 (Рабочие характеристики новой репортерной линии клеток-кератиноцитов для скринингового анализа кожных сенсибилизаторов в условиях *in vitro*)

[19] Enoch, S.J., Ellison, C.M., Schultz, T.W. and Cronin, M.T.D. 2011. A review of the electrophilic reaction chemistry involved on covalent protein binding relevant to toxicity. Crit. Rev. Toxicol. 41: 783—802 (Обзор электрофильных химических реакций при ковалентном связывании белков, приводящем к токсическому воздействию)

[20] Facy, V., Flouret, V., Régnier, M. and Schmidt, R. 2004. Langerhans cells integrated into human reconstructed epidermis respond to known sensitizers and ultraviolet exposure. J. Invest. Dermatol. 122: 552–553 (Реакция клеток Лангерганса, внедренных в реконструированный эпидермис, на воздействие известных сенсибилизаторов и ультрафиолетовое излучение)

[21] Gerberick, G.F., Cruse, L.W. and Ryan, C.A. 1999. Local lymph node assay: Differentiating allergic and irritant responses using flow cytometry. Methods-A Companion to Methods in Enzymology 19: 48—55 (Дифференциация реакций на воздействие аллергенных и раздражающих веществ при помощи метода проточной цитометрии)

[22] Gerberick, F., Aleksic, M., Basketter, D., Casati, S., Karlberg, A.T., Kern, P., Kimber, I., Lepoittevin, J.P., Natsch, A., Ovigne, J.M., Rovida, C., Sakaguchi, H. and Schultz, T. 2008. Chemical reactivity measurement and the predictive identification of skin sensitisers. Altern. Lab. Anim.36: 215—242 (Измерения химической реакционной способности и прогностическое определение веществ, способных вызывать сенсибилизацию кожи)

[23] Hopkins, J.E., Naisbitt, D.J., Kitteringham, N.R., Dearman, R.J., Kimber, I. and Park, B.K. 2005. Selective haptenation of cellular or extracellular proteins by chemical allergens: Association with cytokine polarization. Chem. Res. Toxicol. 18: 375—381 (Избирательное гаптенилирование клеточных или внеклеточных белков химическими аллергенами. Зависимость от поляризации цитокинов)

[24] Hooyberghs, J., Schoeters, E., Lambrechts, N., Nelissen, I., Witters, H., Schoeters, G. and Van Den Heuvel, R. 2008. A cell-based in vitro alternative to identify skin sensitizers by gene expression. Toxicol. Appl. Pharmacol. 231: 103—111 (Альтернативный метод клеточного анализа *in vitro* для определения веществ, способных вызывать сенсибилизацию кожи, на основе оценки экспрессии генов)

[25] Karlberg, A.-T., Bergström, M.A. Börje, A. Luthman, K. and Nilsson, J.L. 2008. Allergic contact dermatitis- formation, structural requirements, and reactivity of skin sensitizers. Chem. Res. Toxicol. 21: 53—69 (Контактный аллергический дерматит: формирование, структурные особенности и реакционная способность кожных сенсибилизаторов)

[26] Kimber, I., Basketter, D.A., Gerberick, G.F. and Dearman, R.J. 2002a. Allergic contact dermatitis. Int. Immunopharmacol. 2: 201—211 (Аллергический контактный дерматит)

[27] Kimber, I., Dearman, R.J., Basketter, D.A., Ryan, C.A. and Gerberick, G.F. 2002b. The local lymph node assay: past, present and future. Contact Dermatitis 47: 315—328 (Метод изучения реакции регионарных лимфатических узлов. Прошлое, настоящее, будущее)

[28] Landersteiner, K. and Jacobs, J. 1936. Studies on the sensitisation of animals with simple chemical compounds. II. J. Exp. Med. 64: 625–639 (Исследование процессов сенсибилизации у животных при воздействии простых химических соединений)

[29] Lempertz, U., Kühn, U., Knop, J. and Becker, D. 1996. An approach to predictive testing of contact sensitizers in vitro by monitoring their influence on endocytic mechanisms. Internat. Arch. Allergy Immunol. 111: 64—70 (Подход к прогностическому тестированию контактных сенсибилизаторов *in vitro* путем мониторинга их влияния на эндоцитарные механизмы)

[30] Lepoittevin, J.-P., Basketter, D.A., Goossens, A. and Karlberg, A.-T. (eds) 1998. Allergic contact dermatitis: the molecular basis. Springer, Berlin (Аллергический контактный дерматит. Молекулярные основы)

[31] Mitjans, M., Galbiati, V., Lucchi, L., Viviani, B., Marinovich, M., Galli, C.L. and Corsini, E. 2010. Use of IL-8 release and p38 MAPK activation in THP-1 cells to identify allergens and to assess their potency *in vitro*. Toxicol. In Vitro 24: 1803–1809 (Использование сведений о выбросах IL-8 и активации p38 MAPK в клетках THP-1 для выявления аллергенов и оценки их сенсибилизирующей способности *in vitro*)

[32] McKim, J.M. Jr, Keller, D.J. III and Gorski, J.R. 2010. A new in vitro method for identifying chemical sensitizers combining peptide binding with ARE/EpRE-mediated gene expression in human skin cells. Cutan. Ocul. Toxicol. 29: 171–192 (Новый метод исследования *in vitro* для выявления химических сенсибилизаторов на основе связывания пептидов и экспрессии ARE/EpRE-зависимых генов в клетках кожи человека)

[33] Miyazawa, M. Ito, Y., Kosaka, N., Nukada, Y., Sakaguchi, H., Suzuki, H., and Nishiyama, N. 2008. Role of MAPK signalling pathway in the activation of dendritic type cell line, THP-1, induced by DNBC and NiSO4. Toxicol. Sci. 33: 51–59 (Роль сигнального пути MAPK в активации линии дендритных клеток THP-1 при воздействии ДНХБ и NiSO4)

[34] Natsch, A., Bauch, C., Foertsch, L., Gerberick, F., Norman, K., Hilberer, A., Inglis, H., Landsiedel, R., Onken, S., Reuter, H., Schepky, A. and Emter, R. 2011. The intra- and inter-laboratory reproducibility and predictivity of the KeratinoSens assay to predict skin sensitizers in vitro: results of a ring-study in five laboratories. Toxicol. In Vitro 25: 733—44 (Внутри- и межлабораторные показатели воспроизводимости и достоверности прогнозирования метода KeratinoSens, применяемого *in vitro* для прогнозирования способности веществ вызывать сенсибилизацию кожи. Результаты круговых сличений в пяти лабораториях)

[35] Nukada, Y., Foertsch, L., Ashikaga, T., Sakaguchi, H. Nishiyama, N. Gerberick, F. 2011. Predicting allergy potential by battery evaluation system using two in vitro skin sensitisation tests; Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) and human Cell Line Activation Test (h-CLAT). poster 060 Society of Toxicology Meeting (Прогнозирование аллергической способности на основе системы комплексной оценки с применением двух методов исследования сенсибилизации кожи *in vitro*: прямого анализа реакционной способности в отношении пептидов (DPRA) и теста на активацию линии клеток человека (h-CLAT))

[36] OECD 2011. Report of the Expert Consultation on Scientific and Regulatory Evaluation of Organic Chemistry-based Structural Alerts for the Identification of Protein-binding Chemicals. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 139. ENV/JM/MONO(2011)9 (Отчет экспертной консультации по научной и нормативной оценке структурных предупреждений на основе органической химии для идентификации связывающих белок химических веществ)

[37] Ovigne, J.M., Martinozzi-Teissier, S., Verda, D., Abdou, D., Piroird, C., Ade, N. and Rousset, F. 2008. The MUSST for in vitro skin sensitisation prediction: Applicability domains and complementary protocols to adapt to the physico-chemical diversity of chemicals. Toxicology Letters, 180: Supplement 1, 5, S216 (Применение метода MUSST для прогнозирования сенсибилизации кожи *in vitro*. Области применимости и дополнительные протоколы для учета физико-химического разнообразия химической продукции)

[38] Sakaguchi, H., Ashikaga, T., Miyazawa, M., Kosaka, N., Ito, Y., Yoneyama, K., Sono, S., Itagaki, H., Toyoda, H. and Suzuki, H. 2009. The relationship between CD86/CD54 expression and THP-1 cell viability in an in vitro skin sensitisation test-human cell line activation test (h-CLAT). Cell Biol. Toxicol. 25: 109—126 (Взаимосвязь между экспрессией CD86/CD54 и жизнеспособностью клеток THP-1 при исследовании сенсибилизации кожи *in vitro* с применением теста на активацию линии клеток человека (h-CLAT))

[39] Schmid, M., Reghavan, B., Müller, V., Vogel, T. Fejer, G., Tchapthet, S., Keck, S., Kalis, C., Nielson, P.J., Galanos, C., Roth, J., Skerra, A., Martin, S.F., Freudenberg, M.A. and Goebeler, M. 2010. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nat. Immunol. 11: 814–820 (Ведущая роль Toll-подобного рецептора 4 в развитии контактной аллергической реакции на никель)

[40] Schwöbel, J.A.H., Koleva, Y.K., Bajot, F., Enoch, S.J., Hewitt, M., Madden, J.C., Roberts, D.W. Schultz, T.W. and Cronin, M.T.D. 2011. Measurement and estimation of electrophilic reactivity for predictive toxicology. Chem. Rev. 111: 2562—2596 (Измерение и оценка электрофильной реактивности для прогностической токсикологии)

[41] Trompezinski, S., Migdal, C., Tailhardat, M., Le Varlet, B., Courtellemont, P., Haftek, M. and Serres, M. 2008. Charaterization of early events involved in human dendritic cell maturation induced by sensitizers: cross talk between MAPK signalling pathways. Toxicol. Appl. Pharmacol. 230: 397—406 (Характеристическое описание ранних событий, связанных с созреванием человеческих дендритных клеток при воздействии сенсибилизаторов. Перекрестное влияние сигнальных путей MAPK)

[42] Tuschl, H. and Kovac, R. 2001. Langerhans cells and immature dendritic cells as model systems for screening of skin sensitizers. Toxicol. In Vitro 15: 327—331 (Клетки Лангерганса и незрелые дендритные клетки как модельные системы для скрининговых исследований кожных сенсибилизаторов)

[43] Uchino, T., Takezawa, T. and Ikarashi, Y. 2009. Reconstruction of three-dimensional human skin model composed of dendritic cells, keratinocytes and fibroblasts utilizing a handy scaffold of collagen vitrigel membrane. Toxicol. In Vitro 23: 333—337 (Реконструкция трехмерной модели человеческой кожи на основе дендритных клеток, кератиноцитов и фибробластов с использованием мембраны из коллагенового витригеля в качестве подходящей подложки)

[44] Vandebriel, R.J., Pennings, J.L., Baken, K.A., Pronk, T.E., Boorsma, A., Gottschalk, R., and Van Loveren, H. 2010. Keratinocyte gene expression profiles discriminate sensitizing and irritating compounds. Toxicol. Sci. 117: 81—89 (Использование профилей экспрессии генов в кератиноцитах для различения сенсибилизирующих и раздражающих соединений)

[45] Van Och, F.M.M., Van Loveren, H., Van Wolfswinkel, J.C., Machielsen, A.J.C., Vandebriel, R.J. 2005. Assessment of potency of allergenic activity of low molecular weight compounds based on IL-1α and IL-18 production by a murine and human keratinocyte cell line. Toxicology 210: 95—109 (Оценка аллергенной способности соединений с низкой молекулярной массой исходя из уровня выработки IL-1α и IL-18 клеточными линиями кератиноцитов мышей и человека)

[46] Vocanson, M., Cluzel-Tailhardat, M., Poyet, G., Valeyrie, M., Chavagnac, C., Levarlet, B. et al. 2008. Depletion of human peripheral blood lymphocytes in CD25+ cells allows for the sensitive in vitro screening of contact allergens. J. Invest. Dermatol. 128: 2119—2122 (Возможность использования сведений о деплеции (обеднении) лимфоцитов, присутствующих в периферической крови человека, на примере клеток CD25+ для целей высокочувствительного скрининга *in vitro* при контроле воздействия контактных аллергенов)

[47] Farris, M. W., and D. J. Reed, 1987. High performance liquid chromatography of thiols and disulfides: dinitrophenol derivatives. Methods Enzymol. 143:101—109 (Высокоэффективная жидкостная хроматография тиолов и дисульфидов: производные динитрофенола)

[48] Ashikaga, T., Sakaguchi, H., Sono, S., Kosaka, N., Ishikawa, M., Nukada, Y., Miyazawa, M., Ito, Y., Nishiyama, N. and Itagaki, H. 2010. A comparative evaluation of in vitro skin sensitisation tests: the human cell-line activation test (h-CLAT) versus the local lymph node assay (LLNA). Altern. Lab. Anim. 38: 275—84 (Сравнительная оценка методов определения сенсибилизации кожи *in vitro*. Тест на активацию линии клеток человека (h-CLAT) и метод изучения реакции регионарных лимфатических узлов (LLNA))

[49] Diderich, R. 2010. Tools for category formation and read-across. Overview of the OECD (Q)SAR Application Toolbox. In; Cronin, M.T.D. and Madden, J.C. (eds.) In Silico Toxicology: Principles and Applications. RSC Publishing, Cambridge, United Kingdom. pp. 385—407 (Средства для классификации и метода аналогий. Обзор программного инструментария ОЭСР — (Q)SAR Application Toolbox. Токсикология in Silico: принципы и приложения)

[50] dos Santos, G.G., Reinders, J., Ouwhand, K., Rustemeyer, T., Scheper, R.J. and Gibbs, S. 2009. Progress on the development of human in vitro dendritic cell based assays for assessment of skin sensitizing potential of compounds. Toxicol. Appl. Pharmacol. 236: 372—382 (Прогресс в разработке методов исследований с использованием человеческих дендритных клеток *in vitro* для оценки способности химических соединений вызывать сенсибилизацию кожи)

[51] Gerberick, G.F., Ryan, C.A., Kern, P.S., Schlatter, H., Dearman, R.J., Kimber, I., Patlewicz,G.Y. and Basketter, D.A. 2005. Compilation of historical lymph node data for evaluation of skin sensitisation alternative methods. Dermatitis 16: 157—202 (Компиляция имеющихся данных о состоянии лимфатических узлов для оценки альтернативных методов исследования сенсибилизации кожи)

[52] Kern, P.S., Gerberick, G.F., Ryan, C.A., Kimber, I., Aptula, A. and Basketter, B.A. 2010. Local lymph node data for the evaluation of skin sensitisation alternatives: A second compilation. Dermatitis 21: 8—32 (Данные о состоянии регионарных лимфатических узлов для использования с альтернативными методами оценки сенсибилизации кожи. Повторная компиляция)

[53] Kimber, I., Basketter, D.A., Gerberick, G.F., Ryan, C.A. and Dearman, R.J. 2011. Chemical allergy: Translating biology into hazard characterization. Toxicol. Sci. 120(S1): S238—S268 (Химическая аллергия. Преобразование биологических параметров в характеристики опасности)

[54] Natsch, A. and Emter, R. 2008. Skin sensitizers induce antioxidant response element dependent genes: Application to the in vitro testing of the sensitisation potential of chemicals. Toxicol. Sci. 102: 110—119 (Индуцирование кожными сенсибилизаторами генов, связанных с элементом антиоксидантного ответа. Возможность применения для целей исследований *in vit*ro при изучении сенсибилизирующей способности химической продукции)

[55] OECD 2007. OECD Guidance on grouping chemicals. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 80. ENV/JM/MONO(2007)28 (Руководство ОЭСР по классификации химической продукции. Публикации ОЭСР по охране труда, окружающей среды и технике безопасности. Серия по испытаниям и оценке № 80)

[56] Roberts, D.W. and Natsch, A. 2009. High throughput kinetic profiling approach for covalent binding to peptides: Application to skin sensitisation potency of Michael acceptor electrophiles. Chem. Res. Toxicol. 22: 592—603 (Высокопропускной метод кинетического профилирования для анализа ковалентного связывания с белками. Применение для оценки способности электрофильных акцепторов Михаэля вызывать сенсибилизацию кожи)

[57] Ryan, C.A., Kimber, I., Basketter, D.A., Pallardy, M., Gildea, L.A. and Gerberick, G.F. 2007. Dendtitic cells and skin sensitisation. Biological roles and uses in hazard identification. Toxicol. Appl. Pharmacol. 221: 384—394 (Дендритные клетки и сенсибилизации кожи. Биологические функции и использование для выявления угроз)

[58] Schwöbel, J.A.H., Koleva, Y.K., Bajot, F., Enoch, S.J., Hewitt, M., Madden, J.C., Roberts, D.W. Schultz, T.W. and Cronin, M.T.D. 2011. Measurement and estimation of electrophilic reactivity for predictive toxicology. Chem. Rev. 111: 2562—2596 (Измерение и оценка реакционной способности электрофилов для целей прогнозирования в токсикологии)

[59] Vandebriel, R.J. and van Loveren H. 2010. Non-animal sensitisation testing: State-of-the-art. Crit. Rev. Toxicol. 40: 389–404 (Испытания на сенсибилизацию без проведения опытов на животных. Текущая ситуация)

[60] Wong, H.L. and Liebler, D.C. 2008. Mitochondrial protein targets of thiol-reactive electrophiles. Chem. Res. Toxicol. 21: 796—804 (Митохондриальные белковые мишени тиолреактивных электрофилов)

[61] Andersen, M.E. and Krewski, D. 2009. Toxicity testing in the 21st century: bringing the vision to life. Toxicol. Sci. 107: 324—330 (Токсикологические исследования в 21-м столетии. Идеи претворяются в жизнь)

[62] Jowsey, I.R., Basketter, D.A., Westmoreland, C., Kimber, I., 2006. A future approach to measuring relative skin sensitising potency: A proposal. J. Appl. Toxicol. 26: 341—350 (Перспективный подход к выполнению измерений относительной способности кожных сенсибилизаторов)

[63] Aptula, A.O. and Roberts, D.W. 2006. Mechanistic applicability domain for non-animal based predictions of toxicological endpoints. Chem. Res. Toxicol. 18: 1420—1426 (Механистически определяемая область применимости для прогнозных токсикологических показателей, получаемых без проведения экспериментов на животных)

[64] Jacobs, A. 1997. Understanding Organic Reaction Mechanisms, Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom. p 304 (Понимание механизмов органических реакций)

[65] Roberts, D.W., Patlewicz, G., Kern, P.S., Gerberick, F., Kimber, I., Dearman, R.J., Ryan, C.A., Basketter, D.A. and Aptula, A.O. 2007. Mechanistic applicability domain classification of a local lymph node assay dataset for skin sensitisation. Chem. Res. Toxicol. 20: 1019—1030 (Классификация в соответствии с областями применимости, выделяемыми по механистическому признаку, на основе совокупности данных, полученных методом изучения реакции регионарных лимфатических узлов при исследованиях сенсибилизации кожи)

[66] Gerberick, G.F., Vassallo, J.D., Bailey, R.E., Chaney, J.G., Morrall, S.W. and Lepoittevin, J.-P. 2004. Development of a peprtide reactivity assay for screening contact allergens. Toxicol. Sci. 81: 332—343 (Разработка анализа реактивности пептидов для скрининга контактных аллергенов)

[67] Schultz, T.W., Rogers, K. and Aptula, A.O. 2009. Read-across to rank skin sensitisation potential: Subcategories for the Michael acceptor domain. Contact Dermatitis 60: 21—31 (Применение метода аналогий для ранжирования способности кожных сенсибилизаторов. Подклассы в области применимости акцепторов Михаэля)

[68] OECD (2011). Guidance Document on The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) and Isolated Chicken Eye (ICE) Test Methods: Collection of Tissues for Histological Evaluation and Collection of Data on Non-severe Irritants. Series on Testing and Assessment, №. 160. Adopted October 25, 2011. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development (Руководящий документ по применению метода исследования помутнения и проницаемости роговицы глаза (BCOP) и метода исследования на извлеченных образцах глаз курицы (ICE))

[69] Yarbrough, J.W. and Schultz, T.W. 2007. Abiotic sulfhydryl reactivity: A predictor of aquatic toxicity for carbonyl-containing α, β-unsaturated compounds. Chem. Res. Toxicol. 20: 558—562 (Абиотическая активность сульфгидрила. Прогностический фактор токсичности в водной среде для карбонилсодержащих α-, β-ненасыщенных соединений)

[70] Natsch, A. and Gfeller, H. 2008. LC-MS-based characterization of the peptide reactivity of chemicals to improve the in vitro prediction of the skin sensitisation potential. Toxicol. Sci. 106: 464—478 (Основанная на данных исследований посредством ЖХ-МС характеризация химической продукции по способности к реакции с пептидами для более точного прогнозирования *in vitro* их сенсибилизирующего воздействия на кожу)

[71] Bauch, C., Kolle, S.N., Fabian, E., Pachel, C., Ramirez, T., Wiench, B., Wruck, C.J., van Ravenzwaay, B. and Landsiedal, R. 2011. Intralaboratory validation of four in vitro assays for prediction of skin sensitizing potential of chemicals. Toxicol. In Vitro 25: 1162—1168 (Внутрилабораторная валидация четырех методов *in vit*ro для прогнозирования сенсибилизирующей способности химической продукции)

[72] Roberts, D.W. Schultz, T.W., Wolf, E.M, and Aptula, A.O. 2010. Experimental reactivity parameters for toxicity modeling: Application to aquatic toxicity of Sn2 electrophiles to Tetrahymena pyriformis. Chem. Res. Toxicol. 23: 228—234 (Применение к водной токсичности электрофилов Sn2 по отношению к Tetrahymena pyriformis)

[73] Clarke E.D., Greenhow D.T. and Adams D. (1998) Metabolism-related assays and their application to agrochemical research: reactivity of pesticides with glutathione and glutathione transferases. Pestic. Sci. 54, 385—393 (Анализ, связанный с метаболизмом, его применение в агрохимических исследованиях: реакционная способность пестицидов с глутатион- и глутатион-трансферазами)

[74] Hulbert P.B., Hamoodi NM , (1990) Reactivity of chloronitrobenzenes towards glutathione under physiological conditions — the relationship between structure and reaction-rate. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 8, 1009—1013 (Реакционная активность хлорнитробензолов в отношении глутатиона в физиологических условиях — связь между структурой и скоростью реакции)

[75] Hermens J., Busser F., Leeuwangh P. and Musch A., (1985) Quantitative correlation studies between the lethal toxicity of 15 organic halides to the guppy (Poecilia reticulate) and chemical reactivity towards 4-nitrobenzylpyridine. Toxicol. Environ. Chem. 9, 219—236 (Количественные корреляционные исследования между летальной токсичностью 15 органических галогенидов для гуппи (Poecilia reticulate) и химической реакционной способностью по отношению к 4-нитробензилпиридину)

[76] Bunnet J.F. and Zahler R.E., 1951. Aromatic nucleophilic substituon reactions. Chemical Reviews, 49, 273—412 (Реакции ароматического нуклеофильного замещения)

[77] Landersteiner, K. and Jacobs, J. 1936. Studies on the sensitisation of animals with simple chemical compounds. II. J. Exp. Med. 64: 625—639 (Исследование процессов сенсибилизации у животных при воздействии простых химических соединений)

[78] Gerberick G.F., Vassallo J.D., Foertsch L.M., Price B.B., Chaney J.G., Lepoittevin J.P. (2007) Quantification of chemical peptide for screening contact allergens: a classification tree model approach. Toxicol. Sci. 97, 417—427 (Количественное определение химического пептида для скрининга контактных аллергенов: подход модели дерева классификации)

[79] Natsch, A., Gfeller, H., Rothaupt, M. and Ellis, G. 2007. Utility and limitations of a peptide reactivity assay to predict fragrance allergens. Toxicol. In Vitro 21: 1220—1226 (Практическая ценность и ограничения метода исследований на способность вступать в реакцию с пептидами для целей прогнозирования *in vitro* воздействия аллергенных душистых веществ)

[80] Aleksic, M., Thain, E., Roger, D., Saib, O., Davies, M., Li, J., Aptula, A., and Zazzeroni, R. 2009. Reactivity profiling: Covalent modification of single nucleophile peptides for skin sensitisation risk assessment. Toxicol. Sci. 108: 401—411 (Профиль реакционной способности. Ковалентная модификация одиночных нуклеофильных пептидов для оценки рисков сенсибилизации кожи)

[81] Saunders B.C. (1934) Glutathione. Its reaction with alkali and some N and S derivatives (Глутатион. Его реакция со щелочью и некоторыми производными N и S), Biochem. J. 28, 1977—1981

УДК 661:615,099:006.354 МКС 71.040.10; 13.020.01 MOD

Ключевые слова: химическая продукция, сенсибилизация кожи, ковалентное связывание с белками, AOP, ключевые события, промежуточные события

Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 21.11.2025. Подписано в печать 23.12.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 4,18. Уч.-изд. л. 3,24.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru