





А.Д. Дурнев 
А.К. Жанатаев 

Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт фармакологии
имени В. В. Закусова»,
Балтийская ул., д. 8, Москва, 125315, Российская Федерация

✉ Дурнев Андрей Дмитриевич; adurnev@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Генотоксические поражения рассматриваются не только как причина наследственной и онкологической патологий, но и как наиболее общий фактор, играющий существенную роль в этиопатологии сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, репродуктивных потерь, бесплодия и старения. Это определяет необходимость тщательного контроля за распространением потенциальных генотоксикантов, в том числе среди лекарственных средств (ЛС), как группы соединений, направленно и регулярно используемых человеком. Оценка генотоксичности является неотъемлемым элементом в системе доклинических исследований безопасности ЛС. Цель работы — анализ современного состояния и возможных путей решения методологических и регуляторных проблем в области генотоксикологии для надлежащего проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств. В работе обобщены сведения о фундаментальных представлениях, составивших базу для развития современной генетической токсикологии, рассмотрена история развития исследований, направленных на выявление мутагенных, кластогенных и анеугенных эффектов. Проанализированы регуляторные аспекты генотоксикологических исследований ЛС, рассмотрены вопросы совершенствования стратегии проведения тестирования на генотоксичность. Представлены сведения о тестах на генотоксичность, регламентированных для ЛС, рекомендации по выбору взаимозаменяемых тестов в зависимости от особенностей конкретного исследования. Проведен сравнительный анализ преимуществ и недостатков тестов. Подчеркнуто, что исследование каждого ЛС является самостоятельной научной задачей. Обсуждены вопросы интерпретации и трактовки результатов, предиктивность генотоксикологических исследований для прогноза потенциальной канцерогенности. Даны предложения по совершенствованию стратегии оценки генотоксичности ЛС, в частности рассмотрены возможности ее частичного совмещения с исследованиями по общей токсичности. Подчеркнута необходимость разработки методов регистрации генотоксических событий в генеративных клетках, оценены перспективы внедрения новых тестов, рассмотрены направления фундаментальных и поисковых исследований в области лекарственной генотоксикологии.

Ключевые слова: лекарственные средства; генотоксичность; канцерогенность; мутагенность; доклинические исследования

Для цитирования: Дурнев А.Д., Жанатаев А.К. Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(1):90–109. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109>

A.D. Durnev 
A.K. Zhanataev 

Relevant Aspects of Drug Genetic Toxicology

Zakusov Institute of Pharmacology,
8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation

✉ Andrey D. Durnev; addurnev@mail.ru

ABSTRACT

Genotoxic lesions are not only a cause of genetic pathologies and cancer, but also the most common and significant factor of the etiopathology of cardiovascular and neurodegenerative disorders, reproductive losses, infertility, and aging. This requires careful monitoring of the use of potential genotoxicants including medicinal products (MPs), which are a group of compounds intentionally and routinely used by humans. Genotoxicity assessment is highly essential in preclinical drug safety studies. The aim of the study was to analyse the current situation and reveal possible ways of addressing methodological and regulatory issues in genotoxicology to enable proper conduction of drug safety preclinical studies. The article summarises basic concepts of the modern genetic toxicology development and highlights the history of research aimed at identifying mutagenic, clastogenic, and aneugenic effects. The authors analyse regulatory aspects of genotoxicological studies of MPs and consider issues of improving the strategy for genotoxicity testing. The paper gives information about the genotoxicity tests approved for MPs, recommendations for interchangeability of tests in relation to particular study characteristics. The authors carried out a comparative analysis of the tests' pros and cons with an emphasis that the study of each MP is a separate scientific task. They discuss interpretation of results and prediction of MP carcinogenic potential in genotoxicological studies. Recommendations are given for the optimisation of the MP genotoxicity assessment strategy, considering its partial integration into general toxicity studies. The article stresses the urgent need to develop registration methods for genotoxic events in germ cells, assesses the prospects of new tests, and reviews new trends in drug genotoxicology fundamental research.

Key words: medicinal products; genotoxicity; carcinogenicity; mutagenicity; preclinical studies

For citation: Durnev A.D., Zhanataev A.K. Relevant aspects of drug genetic toxicology. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(1):90–109. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109>

Введение

Оценка генотоксических свойств является обязательным этапом доклинического исследования лекарственных средств (ЛС). Эта позиция разделяется всеми национальными регуляторными органами и поддержана международными организациями, деятельность которых направлена на совершенствование и гармонизацию доклинических исследований: Организацией экономического сотрудничества и развития (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD), Международным советом по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH), Всемирной организацией здравоохранения, Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарствен-

ных средств (Food and Drug Administration, FDA) и др. Новые фундаментальные представления о механизмах и закономерностях генотоксических событий, выявление недостатков принятой методологии на основе опыта ее практического применения, развитие технологий, позволяющих расширить возможности существующих методик и разработать принципиально новые, составляют в совокупности базу для периодического пересмотра стратегии и методологии тестирования ЛС на генотоксическую активность.

Цель работы — анализ современного состояния и возможных путей решения методологических и регуляторных проблем в области генотоксикологии для надлежащего проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств.

История и основные понятия

Открытие радиационного (Г. Меллер, 1927), а затем химического мутагенеза (В. В. Сахаров, 1933; И. А. Рапопорт, 1946; Ш. Ауэрбах, 1947) произошло в первой половине двадцатого столетия. Эти фундаментальные наблюдения раскрыли источник возникновения генетического груза, концепция которого была предложена Дж. Холдейном (1965) и под которым сегодня понимается сумма мутаций, снижающих приспособленность и выживание популяций, а в медицинском плане приводящих к многочисленным генетически обусловленным заболеваниям, угрожающим жизни и здоровью людей и их потомков [1–3].

С открытием структуры ДНК был получен молекулярный базис, на основе которого были начаты исследования природы и молекулярных механизмов индукции генных, хромосомных и геномных мутаций, продолжающиеся в настоящее время. Был установлен ряд фактов фундаментальной значимости:

- мутагенез имеет общебиологический характер и присущ всем живым организмам от бактерий до высших организмов, включая человека;
- средняя частота спонтанного мутирования на локус или геном за поколение сходна у организмов близких таксономических групп (спонтанный мутагенез);
- интенсивность спонтанного мутагенеза может быть существенно увеличена под действием экзогенных мутагенных факторов или эндогенных мутагенных метаболитов (индуцированный мутагенез);
- мутагенез — многоэтапный процесс: первичные повреждения ДНК фиксируются в генные (мутагенез) и хромосомные (кладогенез) мутации в процессе репарации и репликации ДНК;
- возникновение геномных мутаций (анеугенез) связано с нарушениями расхождения хромосом в митозе и мейозе;
- вновь индуцируемые мутации поддерживают в популяции уровни наследственных и онкологических заболеваний, приводят к репродуктивным потерям;
- химические мутагены подразделены на прямые и непрямые, т.е. требующие метаболической активации, ДНК-реактивные и ДНК-нереактивные, а также классифицируются по непосредственному механизму действия (алкилирующие агенты, интеркаляторы,

прооксиданты и др.), по химической природе (полициклические углеводороды, пирролизинные алкалоиды, гетероциклические амины и др.), по источнику происхождения (лекарственные, пищевые, производственные и др.);

- индуцированный мутагенез может быть усилен под действием химических соединений — комутагенов или ослаблен под действием антимутагенов;
- увеличение спонтанных уровней первичных повреждений ДНК наблюдается при многих заболеваниях, коррелирует с нарушениями онтогенеза и может иметь самостоятельную патогенетическую значимость.

В середине прошлого столетия понимание опасности мутагенеза способствовало возникновению на стыке научных дисциплин генетической токсикологии — совокупности фундаментальных и прикладных исследований, конечной целью которых является выявление генотоксикантов и снижение/предотвращение их патогенных эффектов [4]. Ее основными задачами являются исследование механизмов и закономерностей мутагенеза в различных типах клеток, скрининг и мониторинг потенциальных генотоксикантов, разработка методов выявления генотоксических эффектов, изучение возможностей их модификации и оценка риска генотоксических воздействий в отношении здоровья.

На заре становления генотоксикологии ее главной прикладной задачей была оценка риска возникновения мутаций у человека под действием различных факторов окружающей среды, испытания их мутагенной и канцерогенной активностей являлись независимыми процедурами. С введением в практику генотоксикологических исследований экспресс-теста на бактериях — теста Эймса [5] — был накоплен массив экспериментальных данных по мутагенным эффектам известных канцерогенов. После выявления на основе сравнительного анализа этих данных сопряженности мутагенной активности в тесте Эймса с канцерогенностью *in vivo* стало очевидным, что результаты тестов на генотоксичность могут быть использованы и для прогнозирования канцерогенного риска. Это позволило рассматривать тесты на генотоксичность как краткосрочные тесты на канцерогенность, что отражено сегодня во многих методических документах, в том числе в отечественном издании «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств»¹.

¹ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

Таким образом, тестирование на генотоксическую активность преследует две цели: оценку собственно генотоксичности и оценку потенциальной канцерогенности.

Развитие генетической токсикологии способствовало разработке, апробации и внедрению большого количества методов и тест-систем для экспериментального выявления различных категорий индуцированных мутаций. Несмотря на прогрессивное развитие методической базы тестирования, ни тогда, ни сегодня нет теста, позволяющего одновременно, в рамках одного эксперимента определить способность соединения индуцировать различные категории мутаций в соматических и зародышевых клетках. Отсюда возник комплексный подход, предполагающий оценку индукции различных категорий мутаций в разных тестах, на разных тест-объектах. Предлагаемые к использованию тесты группировали в ступенчатые схемы, предполагавшие изменение направления исследований следующего этапа в зависимости от результатов предыдущего. Известными примерами реализации подобных подходов являются схема тестирования на мутагенность, разработанная коллективом авторов под руководством академика Н.П. Бочкова [6], и трехступенчатая схема Б.А. Бриджеса [7]. С их появлением была достигнута главная цель работ этого периода: создание системы скрининга химических мутагенов.

Центральные принципы современного генетического тестирования изложены в недавней работе [8], обобщающей опыт семинара «Стратегии в генотоксикологии: принятие инновационных научных методов в нормативном контексте: сильные и слабые стороны. От нормативной точки зрения до промышленной перспективы», состоявшегося на 47-м ежегодном собрании Европейского общества по экологическому мутагенезу и геномике (2019 г.). Они вытекают из предшествующих воззрений и констатируют, что глубина и объем тестирования должны определяться степенью воздействия вещества на человека, максимум информации должен добываться минимальными затратами труда и животных, а полное тестирование генотоксичности должно охватывать три конечные точки: мутации генов (мутагенность), структурные aberrации хромосом (кластогенность) и числовые хромосомные

мутации (анеуплоидия), что предусматривает комплексное использование разных тестов.

В существующей традиции под термином «генотоксичность» принято понимать всю совокупность предмутационных и мутационных событий (модификации структуры ДНК, генные, хромосомные и геномные мутации), а также обозначать этим термином способность вызывать первичные, предмутационные повреждения ДНК. Термины «мутагенность», «мутаген» вытесняются терминами «генотоксичность», «генотоксикант», «генотоксин».

Регуляторные аспекты генотоксикологии лекарственных средств

На ранних этапах развития учения об индуцированном мутагенезе стала ясна необходимость превентивного экспериментального тестирования вновь синтезируемых и уже применяющихся химических соединений на мутагенность, и было определено, что первоочередность такой работы должна исходить из масштабов распространения и длительности их контакта с человеком. Исходя из этих критериев была актуализирована задача тестирования ЛС на мутагенность, поскольку именно ЛС длительно, регулярно и адресно применяются человеком.

Из множества разработанных тестов на генотоксичность в целях регуляторной оценки ЛС используют методы, валидированные в масштабных межлабораторных исследованиях и многолетней практикой применения. Последний пересмотр пригодности генотоксических тестов, проведенный OECD, пришелся на 2014–2015 гг., его результаты представлены в таблице 1. Следует отметить, что из списка тестов были удалены тесты на *Saccharomyces cerevisiae* и на *Drosophila melanogaster*, тест на внеплановый синтез ДНК и тест по учету сестринских хроматидных обменов (СХО-тест). Однако сделана оговорка, что ранее полученные данные могут использоваться для оценки генотоксического риска². Эта оговорка позволяет не проявлять поспешность при отказе от применения дрозофилы в системе тестирования. Помимо того что в тесте на *D. melanogaster* возможно регистрировать рекомбиногенные события, он незаменим при проверке неопределенных результатов, получаемых в тесте Эймса или в тестах *in vitro*.

² OECD iLibrary: Current status of the test guidelines for genetic toxicology. <https://www.oecd-ilibrary.org>

Таблица 1. Список методических указаний Организации экономического сотрудничества и развития по проведению тестов на генотоксичность химических соединений³

Table 1. List of the guidelines of Organization for Economic Co-operation and Development for genetic toxicity testing of chemicals³

Номер рекомендаций Test Guideline (TGs) Number	Название теста Test	Сроки Deadlines for		
		утверждения Adoption	пересмотра Revision	отмены Removal
Недавно пересмотренные рекомендации Recently revised TGs				
471	Учет обратных генных мутаций у бактерий (тест Эймса) <i>Bacterial reverse mutation test (Ames test)</i>	1983	1997	–
473	Тест на индукцию хромосомных aberrаций <i>in vitro</i> <i>In vitro mammalian chromosomal aberration test</i>	1983	1997/2014	–
474	Микроядерный тест в эритроцитах млекопитающих <i>in vivo</i> <i>In vivo mammalian erythrocyte micronucleus test</i>	1983	1997/2014	–
475	Тест на индукцию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга млекопитающих <i>in vivo</i> <i>In vivo mammalian bone marrow chromosomal aberration test</i>	1984	1997/2014	–
476	Тест на индукцию генных мутаций в клетках млекопитающих <i>in vitro</i> * <i>In vitro mammalian cell gene mutation test*</i>	1984	1997/2015	–
487	Микроядерный тест в клетках млекопитающих <i>in vitro</i> <i>In vitro mammalian cell micronucleus test</i>	2010	2014	–
478	Тест на индукцию доминантных летальных мутаций у грызунов <i>Rodent dominant lethal assay</i>	1984	2015	–
483	Тест на индукцию хромосомных aberrаций в клетках сперматогоний млекопитающих <i>Mammalian spermatogonial chromosomal aberration</i>	1997	2015	–
Недавно утвержденные рекомендации Recently approved TGs				
488	Тест на индукцию мутаций в соматических и половых клетках трансгенных животных <i>Transgenic rodent somatic and germ cell gene mutation assay</i>	2011	–	–
489	Тест ДНК-комет в клетках млекопитающих <i>in vivo</i> <i>In vivo mammalian alkaline comet assay</i>	2014	–	–
490	Тест на индукцию мутаций в гене тимидинкиназы в клетках млекопитающих <i>in vitro</i> <i>In vitro mammalian cell gene mutation assays using the thymidine kenase gene</i>	2015	–	–
Архивные/утратившие силу рекомендации Archived/invalid TGs				
472	Учет обратных генных мутаций у <i>Escherichia coli</i> <i>Escherichia coli, reverse assay</i>	1983	–	1997
477	Учет рецессивных, сцепленных с полом, летальных мутаций у <i>Drosophila melanogaster</i> <i>Sex-linked recessive lethal test in Drosophila melanogaster</i>	1984	–	2013
479	Тест на индукцию сестринских хроматидных обменов в клетках млекопитающих <i>in vitro</i> <i>In vitro sister chromatid exchange assay in mammalian cells</i>	1986	–	2013
480	Тест на индукцию генных мутаций у <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae, gene mutation assay</i>	1986	–	2013

³ OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Health Effects.

Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

Номер рекомендаций <i>Test Guideline (TGs) Number</i>	Название теста <i>Test</i>	Сроки <i>Deadlines for</i>		
		утверждения <i>Adoption</i>	пересмотра <i>Revision</i>	отмены <i>Removal</i>
481	Тест на индукцию митотической рекомбинации у <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae, mitotic recombination assay</i>	1986	–	2013
482	Тест на внеплановый синтез ДНК в клетках млекопитающих <i>in vitro</i> <i>DNA damage and repair, unscheduled DNA synthesis in mammalian cells in vitro</i>	1986	–	2013
484	Спот-тест на мышах <i>Mouse spot test</i>	1986	–	2013
485	Тест на мутации в специфических локусах мышей <i>Mouse heritable translocation assay</i>	1986	–	–
486	Тест на внеплановый синтез ДНК в клетках печени млекопитающих <i>in vivo</i> <i>Unscheduled DNA synthesis test with mammalian liver cells in vivo</i>	1997	–	–

Примечание. «–» — не применимо.

* После пересмотра TG 476 включает только тест по учету генных мутаций в локусах *hprt* или *xprt*.

Note. — *not applicable*.

* After the revision, TG 476 is only for the mammalian cell gene mutation test using the *hprt* or *xprt* loci.

Тесты, упомянутые в таблице 1, используются в регуляторных исследованиях. Они объединяются в схемы тестирования, совокупные результаты которых позволяют охарактеризовать генотоксический профиль тестируемого ЛС.

В соответствии с требованиями, изложенными в отечественном руководстве по доклиническим исследованиям (ДКИ)⁴, до начала фазы I клинических исследований (КИ) в рамках изучения специфических видов токсичности ЛС проводится исследование их мутагенной активности и потенциальной канцерогенности в краткосрочных тестах (рис. 1). Общим этапом этих исследований является оценка индукции генных мутаций на бактериях (тест Эймса) или *D. melanogaster* и хромосомных повреждений *in vivo* методом анализа хромосомных aberrаций (ХрА) в клетках костного мозга на стадии метафазы или учета микроядер (МЯ) в клетках костного мозга или периферической крови грызунов. Оценка потенциальной канцерогенной активности включает проведение дополнительно к указанным тестам на индукцию повреждений ДНК *in vivo*. С этой целью рекомендовано использование метода анализа внепланового синтеза ДНК в клетках печени,

щелочной элюции и внедренного в последней версии руководства метода ДНК-комет⁵. В совокупности указанная схема по набору тестов и методологии тестирования соответствует принятой в международной практике доклинической оценки генотоксичности ЛС. Отличие состоит лишь в том, что перед проведением фазы III КИ предполагается тестирование методом учета доминантных летальных мутаций (ДЛМ) в половых клетках млекопитающих.

При получении отрицательных результатов во всех тестах или положительных результатов по меньшей мере в двух тестах выносится соответствующее заключение об отсутствии или наличии у ЛС генотоксичности и, соответственно, канцерогенного потенциала. Если положительный результат выявляется в одном из тестов, проводится дополнительное исследование с использованием альтернативного теста, регистрирующего тот же тип генотоксического события. В случае подтверждения положительного результата исследование далее не проводится, в случае отрицательного результата переходят к заключительному этапу с использованием одного из прямых экспресс-тестов определения канцерогенности, к примеру учета опухолевой

⁴ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

⁵ ICH S2 (R1) Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. EMA/CHMP/ICH/126642/2008.

Руководство по доклиническим исследованиям, 2012
Pre-clinical research guidelines, 2012

ICH M3(R1); ICH S2(R1)

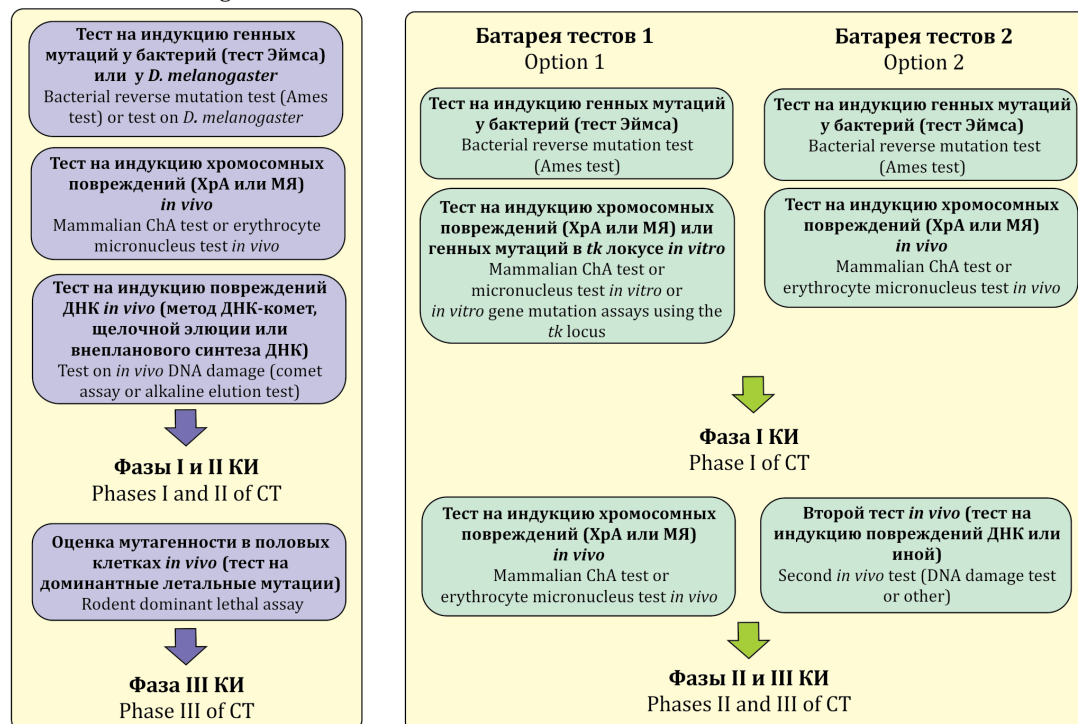


Рис. 1. Стратегии (схемы) проведения исследований по оценке генотоксичности лекарственных средств согласно отечественным⁶ и международным⁷ регуляторным требованиям (КИ – клинические исследования; ХрА – тест на хромосомные aberrации; МЯ – микроядерный тест)

Fig. 1. Strategies (schemes) for genotoxicity testing of medicinal products according to the Russian⁶ and international⁷ requirements (CT—clinical trials; ChA—chromosomal aberrations test)

трансформации клеток *in vitro*. При получении экспериментальных результатов, не позволяющих с полной определенностью сделать заключение о генотоксической активности, на фазе III КИ проводится исследование методами учета хромосомных aberrаций и (или) повреждений ДНК в клетках периферической крови пациентов.

Актуальная на сегодня программа ICH по испытанию ЛС на генотоксическую активность построена по принципу ступенчатого тестирования и определяется совместными требованиями руководств ICH S2(R1) и M3(R2)⁸ [9]. Набор тестов, методология проведения и экспертиза результатов исследований определена в руководстве S2(R1), заменившем руководства S2A и S2B. Порядок проведения исследований в зависимости от этапа/фазы КИ в числе других видов

токсикологических исследований регламентируется мультидисциплинарным руководством M3(R2).

Согласно правилам M3(R1) для проведения КИ с введением ЛС в дозах, составляющих суммарно ≤ 100 мкг ($\leq 1/100$ от NOAEL⁹ или фармакологически активной) или ≤ 500 мкг (не более 5 введений; каждая доза $\leq 1/100$ от NOAEL или фармакологически активной), тестирование на генотоксичность не проводится. Перед КИ с однократным введением ЛС в субтерапевтических или ожидаемых терапевтических дозах достаточной считается оценка генотоксического потенциала в тесте Эймса или альтернативном в случае его неприменимости. КИ с многократным введением ЛС могут быть проведены при наличии данных о его цитогенетической

⁶ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

⁷ ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. EMA/CPMP/ICH/286/1995.

⁸ ICH S2 (R1) Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. EMA/CHMP/ICH/126642/2008.

ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. EMA/CPMP/ICH/286/1995.

⁹ No Observed Adverse Effect Level – доза без наблюдаемого отрицательного эффекта.

активности, полученных в тесте по учету хромосомных нарушений *in vitro* или *in vivo*. До начала фазы II КИ оценка генотоксичности должна быть завершена в полном объеме. При этом в документе дается отсылка на утратившее силу руководство S2B, поскольку на момент утверждения M3(R2) обновленное руководство S2(R1) находилось на стадии разработки.

В соответствии с S2B батарея обязательных тестов включает тест Эймса, *in vitro* тест на индукцию хромосомных нарушений в клетках млекопитающих (или генных мутаций в *tk* локусе клеток мышинной лимфомы) и тест на индукцию хромосомных нарушений в клетках грызунов *in vivo*. Если при неприменимости теста Эймса в качестве альтернативы определено проведение двух *in vitro* тестов с детекцией различных типов генотоксических событий в клетках млекопитающих, то выбор цитогенетического теста перед фазой I КИ с многократным введением документом не регламентируется и выбор остается за разработчиком ЛС. Анализ опыта доклинических исследований в странах – участниках ИЧН показывает, что исследователи предпочитают проведение *in vitro*, и *in vivo* исследований [10]. Причиной является низкая специфичность *in vitro* тестов, результаты которых зачастую могут быть неоднозначными, требующими дальнейшей верификации в расширенных исследованиях *in vivo* [11]. Аргументом также выступает «методологическое удобство» проведения микроядерного анализа *in vivo* одновременно на животных, задействованных в предшествующем фазе I КИ эксперименте по оценке хронической токсичности при 2-недельном введении [11].

В 2006 г. экспертной рабочей группой ИЧН по вопросам безопасности была начата разработка нового усовершенствованного руководства на основе научных и методических достижений и с учетом результатов практики применения стратегий S2A и S2B. В итоге длительных обсуждений была разработана компромиссная версия руководства S2(R1), согласованная исполнительным комитетом ИЧН в 2011 г. и принятая регуляторными органами регионов ИЧН в 2012 г.

Обновленное руководство S2(R1) предусматривает возможность проведения исследований генотоксичности с использованием двух взаимозаменяемых батарей тестов (options). Первая батарея тестов (option 1) полностью соответствует принятой в руководстве S2B, что отчасти разрешает отмеченную выше регуляторную

коллизия, когда руководство M3(R2) ссылается на утративший силу документ. Вторая батарея (option 2) включает тест Эймса и два *in vivo* теста, позволяющих оценить различные типы генотоксических событий в двух разных органах/тканях, как правило, цитогенетический тест в клетках костного мозга и тест на индукцию повреждений ДНК в клетках печени. Хотя руководство M3(R2) прямо не определяет порядок проведения *in vivo* исследований в случае выбора батареи 2, предполагается, что к началу фазы I КИ с многократным введением ЛС должен быть проведен цитогенетический тест.

В S2(R1), как и в предыдущих версиях руководства, не регламентирована стратегия последующих исследований при выявлении у ЛС мутагенности в тесте Эймса. Ввиду высокой степени корреляции мутагенной активности в тесте Эймса с канцерогенностью *in vivo* целесообразным считается прекращение дальнейшей разработки ЛС. При выявлении положительного результата в тесте *in vitro* на клетках млекопитающих (option 1) проводят дополнительное исследование *in vitro* с учетом предполагаемых механизмов наблюдаемых эффектов и возможных методических артефактов (mechanistic information). Если результаты исследования однозначно свидетельствуют в пользу отсутствия генотоксического потенциала, тестирование ЛС завершают проведением одного *in vivo* теста. В противном случае требуется проведение двух *in vivo* тестов, т.е., по сути, переход ко второй схеме тестирования (option 2). При выявлении положительных результатов в *in vivo* тесте(ах) разработка ЛС может быть продолжена при соответствующем обосновании «польза – риск» на основе данных расширенных генотоксикологических исследований.

Таким образом, отличительной особенностью международных требований к доклинической оценке генотоксичности ЛС по сравнению с отечественными является возможность поэтапного тестирования в зависимости от дозы/режима применения и фазы КИ, а также отсутствие необходимости отдельных исследований в половых клетках. Такая стратегия позволяет существенно сократить временные и ресурсные затраты в случае ЛС, неперспективных для дальнейшей разработки по результатам доклинических или клинических исследований. Кроме того, она согласуется с директивой о гуманизации экспериментальных исследований с использованием лабораторных животных 3R (Replacement, Reduction, Refinement) [11].

На сегодня в Российской Федерации в области ДКИ ЛС ведется активная работа по внедрению новых межгосударственных стандартов в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС), в первую очередь с целью гармонизации норм и правил с международными регламентирующими документами. Важно подчеркнуть, что действующая методология и методическая база тестирования на генотоксичность не имеет принципиальных отличий от международных, что значительно облегчает переход отечественных экспертных лабораторий на обновленные схемы тестирования. Так, например, новейший метод оценки генотоксичности, метод ДНК-комет, в отечественное руководство по ДКИ¹⁰ был введен за два года до его внесения в список тестов, рекомендованный OECD¹¹.

Совершенствование стратегии тестирования

Описанные выше схемы тестирования доказали свою пригодность и эффективность. Однако сколь велико бывает разочарование исследователя и сколь высоки материальные потери, когда практически готовое ЛС отклоняется от дальнейшей разработки по причине его генотоксичности. В этой связи представляется, что генотоксикологические исследования следует начинать как можно раньше, привязывая их к этапам жизненного цикла ЛС. Такой подход перекликается с идеей многоуровневого тестирования, предполагающего как можно более раннее использование генотоксических тестов, в том числе альтернативных, не входящих в основной список батареи генотоксических тестов и (или) методы *in silico* [8]. Предлагаемая усовершенствованная оценка генотоксичности ЛС представлена на рисунке 2. Самые первые, пилотные исследования на генотоксичность целесообразно проводить еще на этапе фармакологического скрининга. Это позволит исключить из выборки генотоксические вещества-кандидаты в случае отсутствия перспективности их дальнейшей разработки и избежать таким образом затрат на проведение полного цикла токсикологических исследований в рамках ДКИ.

При получении на первом этапе отрицательных результатов (отсутствие генотоксичности) предполагается выполнение в рамках комплекса ДКИ всех тестов на генотоксичность, регламентированных вышеописанными схемами

тестирования (рис. 1). Для углубленной оценки риска и исключения ложных заключений в случае получения на этом этапе слабо выраженных, плохо воспроизводимых, не имеющих дозовой зависимости результатов, предусматривается продолжение генотоксикологических исследований в ходе фаз I и II КИ с использованием малоинвазивных методов.

Таким образом, использование предлагаемой стратегии не входит в противоречие с существующими формальными требованиями, но расширяет возможности предупреждения непродуктивных усилий при разработке ЛС, неперспективных в силу генотоксических характеристик.

При разборе представленной схемы (рис. 2) требует обсуждения ряд вопросов.

1) Тест Эймса или тимидинкиназный тест? Тест Эймса хорошо известен с 1975 г. после публикаций, в которых по результатам испытаний более 300 химических соединений было сделано заключение о его высокой надежности для выявления генотоксических химических канцерогенов [12, 13]. С конца 70-х годов прошлого столетия данный тест входит в качестве базового во все батареи тестирования на генотоксичность. Однако было показано, что прогностическая способность теста Эймса неоднозначна. При случайной выборке соединений разных химических классов с его помощью обнаруживается 60% генотоксикантов, являющихся канцерогенами для грызунов. В случае полициклических ароматических углеводородов или гетероциклических аминов эта величина приближается к 100%, но составляет лишь 20% в отношении хлорсодержащих органических соединений [14, 15]. Его главные недостатки — использование прокариотических тест-объектов *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*, нефизиологическая метаболическая активация соединений микросомами млекопитающих, высокий процент ложных результатов при оценке отдельных классов химических соединений, невозможность испытания веществ с антибактериальной активностью.

Тимидинкиназный тест (*tk*-тест) на клетках мышиной лимфомы L5178Y (mouse lymphoma assay, MLA) или на лимфобластных клетках человека (TK6), а также сходные тесты на клеточных линиях CHO, AS52, V79 китайского хомячка и др.

¹⁰ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

¹¹ Test No. 489: In vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. Paris: OECD Publishing; 2014. <https://doi.org/10.1787/9789264224179-en>

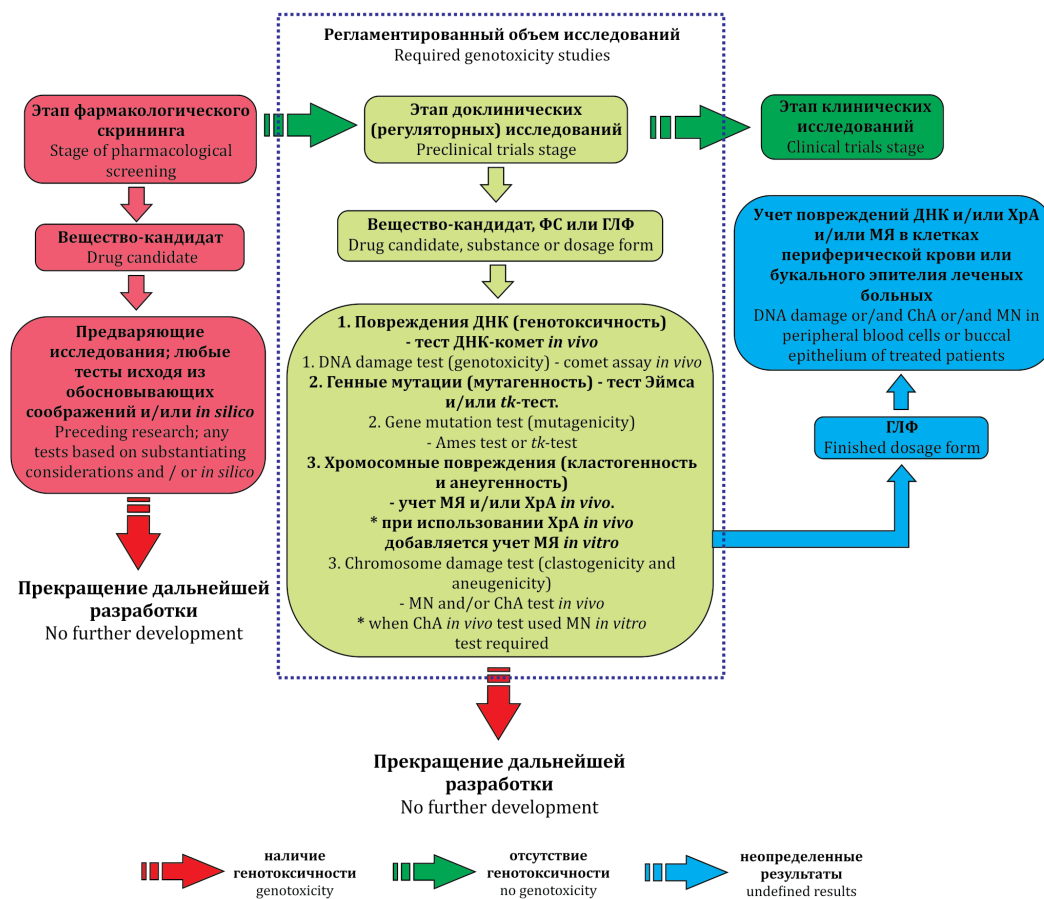


Рис. 2. Усовершенствованная стратегия оценки генотоксичности лекарственных средств (ХрА – тест на хромосомные aberrации; МЯ – микроядерный тест; ГЛФ – готовая лекарственная форма)

Fig. 2. Updated strategy for medicinal products genotoxicity testing (ChA—chromosomal aberrations test; MN—erythrocyte micronucleus test)

имеют тот же недостаток – необходимость нефизиологической метаболической активации и единый locus оценки, в рассматриваемом случае – ген тимидинкиназы. Вместе с тем если тест Эймса в высшей степени верифицирован и отработан, вплоть до возможности его проведения на стандартизованных коммерческих наборах без необходимости в привлечении бактериологической лаборатории, тесты на эукариотических клетках верифицированы в значительно меньшей степени, более длительны, трудоемки и требуют определенных компетенций у персонала. Очевидно, что предпочтение, в особенности для пилотной оценки генотоксичности на этапе фармакологического скрининга, следует отдавать тесту Эймса.

2) Микроядерный тест или тест на хромосомные aberrации? Микроядра образуются либо в результате анеугенеза, либо в результате кластогенеза. По отношению к последнему они вторичны, так как образуются из ацентрических фрагментов хромосом. Отсюда очевидно,

что для оценки именно кластогенной активности целесообразнее использовать учет хромосомных aberrаций. Его недостатки – высокие требования к квалификации персонала, отсутствие автоматизации, учет только структурных изменений хромосом. Микроядерный тест лишен этих недостатков, может быть автоматизирован и позволяет интегративно оценить кластогенные и анеугенные события. Отсюда очевидно, что в целях скрининга, не предполагающего изучение механизма повреждающего действия, микроядерный тест предпочтительнее. Тест по учету хромосомных aberrаций целесообразно использовать в уточняющих исследованиях, чтобы дифференцировать кластогенный и анеугенный механизмы индукции микроядер.

3) In vitro или in vivo? В случае рассмотрения предлагаемой стратегии (рис. 2) подобная альтернатива возникает только при использовании in vivo теста на хромосомные повреждения. Но проблема существенно шире. Анализ литературы показывает, что при общем стремлении

свести к минимуму использование животных в медико-биологических экспериментах (принцип 3R) и задаче отказаться от применения животных в экспериментах к 2035 г.¹² результаты, полученные *in vivo*, имеют приоритет над результатами *in vitro*¹³. Кроме того, не следует забывать, что согласно третьему пункту Нюрнбергского кодекса, одного из основополагающих международных документов, принятого Нюрнбергским трибуналом в августе 1947 г.: «Эксперимент должен основываться на данных, полученных в лабораторных исследованиях на животных...», что всегда может оказаться решающим аргументом для регуляторных ведомств.

Среди наиболее общих проблем исследований *in vitro* в генотоксикологическом эксперименте [16] следует отметить:

- методические сложности в случае с мало- или нерастворимыми соединениями;
- трудности экстраполяции при отсутствии соответствия условиям гомеостаза в организме, не учитываются системные (центральная нервная и эндокринная системы), метаболические реакции, взаимодействия систем и др.;
- низкая прогностическая способность (40–70%);
- плохая воспроизводимость и многочисленные ложные результаты.

Таким образом, предпочтение, несомненно, должно быть отдано тестам *in vivo*. Однако в случаях, когда исследователь не располагает сведениями о биораспределении вещества в организме, т.е. не может однозначно указать на его присутствие в области анализируемой ткани и (или) использован метод учета хромосомных aberrаций, возникает необходимость дополнения тестов *in vivo* тестом по учету микроядер *in vitro* (рис. 2).

4) Что тестировать: вещество-кандидат, фармацевтическую субстанцию или препарат в готовой лекарственной форме (ГЛФ)? Выбор объекта тестирования в случае проведения исследований *in vitro* очевиден. Входящие в состав многих ГЛФ вспомогательные вещества (наполнители, стабилизаторы, пролонгаторы и т.д.), как правило, плохо- или нерастворимы в воде и (или) в применимых для клеточных культур растворителях, что значительно снижает

технически достижимую высшую тестируемую концентрацию действующего вещества в тест-системе. Кроме того, вспомогательные вещества, в том числе в инъекционной или назальной лекарственной формах, могут в *in vitro* системе либо оказывать непосредственное воздействие на клетки, приводя к неконтролируемым нежелательным эффектам, либо препятствовать проникновению целевой молекулы в клетки.

В случае *in vivo* тестов выбор объекта тестирования не столь очевиден. С одной стороны, при планируемом в клинике пути введения вещества в виде ГЛФ может иметь большую биодоступность, что и является целью в исследованиях по разработке состава ГЛФ. С другой стороны, как и в случае с *in vitro* исследованиями, наличие вспомогательных веществ ограничивает технически достижимую высшую тестируемую дозу вещества, в особенности когда содержание действующего вещества в ГЛФ мало. За исключением, возможно, интрагастрального пути, введение животным рекомендуемой высшей тестируемой дозы 1/10–1/2 ЛД₅₀ (или 2000 мг/кг для нетоксичных веществ) становится сложно выполнимой задачей. При этом *per se* введение большого количества вспомогательных веществ может приводить к неспецифическим местным реакциям и, как следствие, к искажению результатов. Исходя из этого для *in vivo* тестов целесообразным представляется неформализованный подход, предусматривающий в каждом конкретном случае обоснованный выбор формы тестируемого вещества-кандидата в зависимости от метода исследования, тест-системы, дозы, пути и режима введения.

Альтернативы тестов, представленные на рисунке 2, правильно рассматривать не как взаимоисключающие, а скорее как взаимодополняющие, например неопределенные данные в тесте Эймса можно проверить в *tk*-тесте, неопределенные данные в микроядерном тесте проверить с учетом ХрА и на этом основании расшифровать кластогенную или анеугенную природу МЯ.

В обозримом будущем перспективным выглядит внедрение в практику теста Pig-a — *in vivo* теста, основанного на оценке индукции генных мутаций в гене *PIGA*, приводящих к нарушению синтеза гликозилфосфатидилинозитола — якорного

¹² US Environmental Protection Agency Memorandum. Washington, D. C. 20460; 2019. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-09/documents/image2019-09-09-231249.pdf>

¹³ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

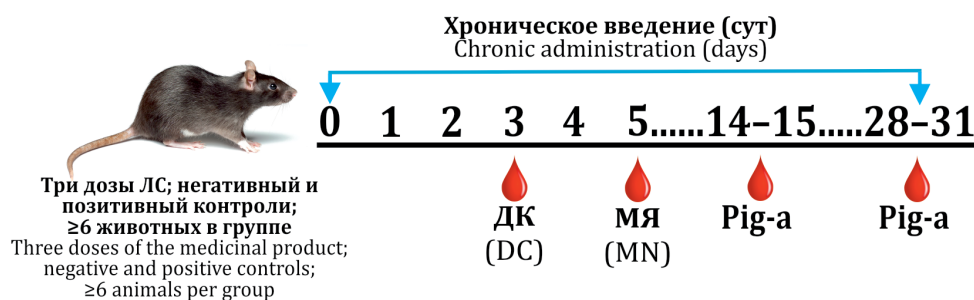


Рис. 3. Схема проведения тестирования лекарственных средств (ЛС) на генотоксичность по трем конечным точкам: ДК – тест ДНК-комет, МЯ – микроядерный тест и тест Pig-a в рамках хронического токсикологического эксперимента

Fig. 3. Scheme for assessing genotoxicity of medicinal products by three endpoints: DC–DNA comet assay, MN–erythrocyte micronucleus test and Pig-a assay within a chronic toxicity study

белка мембраны эритроцитов [17]. На сегодняшний день на завершающем этапе находится разработка экспертной группой OECD методических указаний по проведению теста Pig-a в целях генотоксикологической оценки¹⁴. Помимо возможности оценки индукции генных мутаций *in vivo*, преимуществами этого теста являются минимальное количество требуемого биоматериала и цитофлуориметрический метод оценки результатов, что позволяет отслеживать эффекты в динамике. Приведенные выше *in vivo* методы (рис. 2), микроядерный тест и метод ДНК-комет, также выполнимы на малом объеме биоматериала, и, следовательно, перспективной представляется схема тестирования, объединяющая все три теста в один эксперимент, в идеале интегрированный в хронический токсикологический (рис. 3). Такая схема тестирования имеет ряд очевидных преимуществ, среди которых значительная экономия затрат на лабораторных животных и, соответственно, максимальная реализация принципов 3R, возможность одновременной оценки и сопоставления данных по трем конечным точкам (end-points) у одних и тех же животных.

В более отдаленной перспективе не исключено применение для выявления генных мутаций новых технологий секвенирования следующего поколения с исправлением ошибок (Error-Corrected Next Generation Sequencing, EC-NGS), которые позволяют выявлять мутации в любом месте генома или во всем геноме [18]. Предполагается, что их применение обеспечит более адекватные оценки частоты мутаций и будет в состоянии оценить мутацию генов в любой ткани любого животного. Эти новейшие методы имеют большие перспективы, но они требуют дальнейшей разработки и валидации, прежде

чем их можно будет использовать для регуляторных целей [19, 20].

Несомненным достижением прикладных генотоксикологических исследований в соматических клетках является доказанная прогностическая значимость их результатов для оценки потенциальной канцерогенности. Данные по чувствительности и специфичности генотоксических тестов в прогнозе канцерогенности обобщены из нескольких источников [21–24] и представлены в таблице 2. В совокупности с тестами на клеточную трансформацию *in vitro*, позволяющими детектировать негенотоксические канцерогены, краткосрочные тесты на генотоксичность в перспективе могут послужить альтернативой стандартному двухлетнему биотестированию на канцерогенность на грызунах [3].

Интерпретация результатов генотоксикологических исследований лекарственных средств

Сегодня нет общепринятого взгляда на трактовку результатов генотоксического тестирования. Наиболее простой и логичной с точки зрения регуляторных исследований выглядит трактовка результатов, предлагаемая в работе [25]. Ее авторы выделяют:

- очевидное доказательство – тестируемое соединение проявило эффекты *in vivo* на млекопитающих или на многих организмах;
- приблизительное доказательство – соединение показало положительные результаты в *in vitro* тестах при условии исключения ложноположительных результатов вследствие экстремальных условий культивирования (изменение pH, увеличенная

¹⁴ Mammalian Erythrocyte Pig-a Gene Mutation Assay. Draft OECD guideline for the testing of chemicals. 2021.

Таблица 2. Предикция канцерогенности на основе комбинаций тестов на генотоксичность [21–24]

Table 2. Prediction of carcinogenicity using combinations of genotoxicity tests [21–24]

Комбинация тестов <i>Combination of tests</i>	Чувствительность, % <i>Sensitivity, %</i>	Специфичность, % <i>Specificity, %</i>
Тест Эймса + МЯ <i>in vitro</i> <i>Ames test + MN in vitro</i>	73	12–37
Тест Эймса + MLA <i>Ames test + MLA</i>	81–89	32
Тест Эймса + MLA + ХрА <i>in vitro</i> <i>Ames test + MLA + ChA in vitro</i>	84	23
Тест Эймса + MLA + МЯ <i>in vitro</i> <i>Ames test + MLA + MN in vitro</i>	91	5
Тест Эймса + МЯ <i>in vitro</i> + МЯ <i>in vivo</i> <i>Ames test + MN in vitro + MN in vivo</i>	80	21
Тест Эймса + МЯ <i>in vitro</i> + TGR <i>Ames test + MN in vitro + TGR</i>	89	–
Тест Эймса + МЯ <i>in vivo</i> + TGR <i>Ames test + MN in vivo + TGR</i>	87	–
Тест Эймса + МЯ <i>in vitro</i> + МЯ <i>in vivo</i> + TGR <i>Ames test + MN in vivo + МЯ in vitro + TGR</i>	89	–
Тест Эймса + TGR <i>Ames test + TGR</i>	84	–
Тест Эймса + ДНК-комет <i>in vivo</i> <i>Ames test + comet assay in vivo</i>	90	–
Тест Эймса + МЯ <i>in vivo</i> <i>Ames test + MN in vivo</i>	78	–
MLA + МЯ <i>in vitro</i> <i>MLA + MN in vitro</i>	87	10
MLA + ХрА <i>in vitro</i> <i>MLA + ChA in vitro</i>	89	27
ХрА <i>in vivo</i> + МЯ <i>in vivo</i> <i>ChA in vivo + MN in vivo</i>	88	–
МЯ <i>in vivo</i> + ДНК-комет <i>in vivo</i> <i>MN in vivo + comet assay in vivo</i>	92–94	–
ХрА <i>in vivo</i> + ДНК-комет <i>in vivo</i> <i>ChA in vivo + comet assay in vivo</i>	97	–
МЯ <i>in vivo</i> + TGR <i>MN in vivo + TGR</i>	94	–
МЯ <i>in vivo</i> + Pig-A <i>MN in vivo + Pig-A</i>	93	–
МЯ <i>in vivo</i> + ДНК-комет <i>in vitro</i> <i>MN in vivo + comet assay in vitro</i>	96	–
ХрА <i>in vivo</i> + ДНК-комет <i>in vitro</i> <i>ChA in vivo + comet assay in vitro</i>	91*	–

Примечание. МЯ – микроядерный тест; ХрА – тест на хромосомные aberrации; MLA – тест на клетках мышиной лимфомы; TGR – совокупно тесты на индукцию мутаций в специфических локусах у трансгенных животных (*Muta*TM, *Big Blue*®, *lacZ*, *gpt delta*); «–» – данные отсутствуют.

* Положительный результат для 4 негенотоксичных канцерогенов в тесте ДНК-комет.

Note. MN – micronucleus test; ChA – chromosome aberration test; MLA – mouse lymphoma assay; TGR – tests for induction of mutations at specific loci in transgenic rodents (*Muta*TM, *Big Blue*®, *lacZ*, *gpt delta*); – no data available.

* Positive results for 4 non-genotoxic carcinogens in comet assay.

осмолярность и пр.) или повышенной цитотоксичности;

- недостаточное доказательство — эффект выявлен, но использован не полный набор тестов или эффект наблюдается в исследованиях, выполненных с отклонениями от принятых протоколов. При таких обстоятельствах результаты потребуют подтверждений в исследованиях, дизайн и выполнение которых не вызывают вопросов;
- сомнительное (неопределенное) свидетельство — данные получены адекватными методами, но их нельзя однозначно классифицировать как положительные или отрицательные. То есть в одном или нескольких проведенных тестах имеются «пограничные» отличия от данных негативного контроля. Если «пограничный» ответ сохраняется в повторных исследованиях, то ответ может быть не определен вне зависимости от того, сколько бы повторов ни проводилось. Такой случай, при условии доказательства отсутствия ошибок определения, классифицируется как «неопределенное свидетельство»;
- положительное свидетельство — положительные результаты, полученные с помощью хорошо проведенных, валидированных тестов делятся на три категории: возможный мутаген для человека, вероятный мутаген для человека и мутаген для человека;
- возможный мутаген для человека — в отдельных тестах батареи выявлены положительные результаты. Например, подтвержденные положительные результаты в тестах *in vitro* при отсутствии таковых *in vivo*. Соединения, попадающие в эту категорию, рассматриваются как потенциальные мутагены, не проявляющиеся *in vivo*;
- вероятный мутаген для человека — соединение, показавшее положительные результаты *in vivo*. Предполагается, что тесты *in vivo* проводятся после получения положительных результатов *in vitro*;
- мутаген для человека — получены положительные данные в эпидемиологических или клинических исследованиях, предполагающих получение положительных эффектов на соматических клетках человека, выявленные в результате документированного воздействия агента *in vivo*;
- отрицательное свидетельство — отсутствие эффектов на принятых тестах стандартной батареи с учетом структурных особенностей соединения, его метаболизма и механизма

действия, а также с учетом других данных, не обнаружены мутагенные/генотоксические свойства. В этом случае считается, что тестируемое соединение не обладает мутагенной активностью. Авторы работы [3] отмечают, что «...такое заключение выносится, когда данные всех исследований отрицательны, клеточные культуры или животные подверглись воздействию соединения в субтоксической или максимальной дозе, и результаты не отличаются значимо от негативного контроля. При оценке риска развития онкопатологий отрицательное свидетельство о мутагенных/генотоксических свойствах не исключает возможности того, что если при исследовании на индукцию канцерогенеза у соединения наблюдались канцерогенные свойства, то причиной этого могут быть иные, не связанные с генотоксичностью механизмы».

Очевидно, что при планировании экспериментов конечной целью следует обозначать получение «очевидных доказательств» или «отрицательных свидетельств».

Не разбирая возможные примеры возникновения противоречивых и неопределенных результатов, подчеркнем, что биологический эффект может считаться достоверно доказанным в случае воспроизводимости в независимых сериях экспериментов и (или) получении отчетливой дозовой зависимости эффекта. В соответствии с последним на первый план выходит необходимость анализа дозовых зависимостей проявления генотоксических эффектов *in vivo*, без которого невозможна оценка соотношения «польза — риск» клинического применения генотоксиканта.

Сама по себе постановка вопроса о потенциальном риске применения генотоксикантов, прослеживающаяся в современной литературе [25]¹⁵, предполагает, что выявление генотоксичности не означает автоматической выбраковки вещества-кандидата из разработки. Наличие выраженных порогов действия ряда генотоксикантов предполагает возможность их применения в области безопасных дозировок. Вместе с тем рассмотрение этого вопроса требует большой осторожности в связи с недостаточностью знаний. С нашей точки зрения проблемы оценки соотношения «польза — риск» и экстраполяции (трансляции) экспериментальных данных на человека

¹⁵ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

имеют самостоятельное научное значение и могут быть решены только на основе фундаментальных исследований. Среди них, во-первых, исследования, направленные на освещение вопросов тканеспецифичности мутагенеза, роли генетических полиморфизмов в формировании индивидуальной чувствительности к действию мутагенов, закономерностей «доза–эффект» терапевтического и генотоксического действия на основе дешифровки межвидовых особенностей проявления эффектов и выявления пороговости или беспороговости их становления, выявление значимости разных маркеров генотоксичности для оценки возможных рисков.

Перспективы развития генотоксикологии лекарственных средств

Сегодня ни одна схема генотоксического тестирования не предлагает решения насущной проблемы регистрации генотоксических эффектов в половых (генеративных) клетках. Согласно требованиям ICH регистрация генотоксических эффектов в половых клетках не входит в перечень обязательных исследований при доклинических испытаниях ЛС. Считается, что генотоксиканты для половых клеток с высокой степенью вероятности выявляются в тестах на соматических клетках и отсутствие генотоксичности *in vivo* предполагает ее отсутствие в том числе и в половых клетках [26]¹⁶.

Вместе с тем на сегодня ведущие специалисты в области генотоксикологии сходятся во мнении, что, несмотря на высокую прогностическую эффективность, результаты тестов на соматических клетках не могут служить надежным предиктором генотоксических эффектов в половых [27]. Согласно исследованиям последних лет, наряду с особенностями процессов клеточного деления при гаметогенезе половые клетки и их предшественники характеризуются специфичными протеомным, транскриптомным, метаболомным профилями, а также путями эпигенетической регуляции, что предполагает наличие уникальных для них мишеней генотоксического воздействия [27, 28]. Примечательно, что в комментариях руководства S2A¹⁷ отмечалась вероятность существования специфичных для половых клеток генотоксикантов, в первую очередь анеугенов, однако данный комментарий был удален из обновленного документа S2(R1).

Решение проблемы регистрации генотоксических эффектов в половых (генеративных) клетках затруднено отсутствием адекватной методологической базы. Имеющиеся методы обладают низкой специфичностью и (или) производительностью, дорогостоящи либо в недостаточной степени валидированы, что затрудняет их рутинное применение в экспертной генотоксикологической оценке. Важным недостатком этих методов является использование в качестве тест-объекта исключительно самцов при имеющихся экспериментальных свидетельствах особенностей процессов спонтанного и индуцированного мутагенеза в мужских и женских половых клетках [29, 30]. В ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» усовершенствована и успешно апробирована методика цитогенетического анализа в ооцитах мышей [31], которая может быть внедрена в доклиническую оценку генотоксичности лекарств. Важной задачей является дальнейшее развитие исследований по разработке методов регистрации генотоксических событий в генеративных клетках.

Несмотря на наличие регламентирующих указаний, практического решения до сих пор не найдено для оценки генотоксических рисков применения генотерапевтических средств. Вопрос о потенциальной возможности вертикального переноса целевой последовательности ДНК и (или) векторных последовательностей в генеративные клетки, а также вероятность инсерционного мутагенеза и канцерогенеза в результате применения этих средств в методическом плане остается открытым.

Аналогичным образом требует решения проблема генотоксичности по отношению к митохондриальной ДНК (мтДНК). Мутации в митохондриях, унаследованные по материнской линии или приобретенные *de novo*, являются источником широкого спектра митохондриальных патологий. Однако должные методы оценки индукции повреждений мтДНК не разработаны. Решение этого вопроса возможно на методике оценки первичных повреждений в мтДНК, основанной на применении полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

На различных этапах теоретической и (или) экспериментальной проработки находятся вопросы оценки генетической безопасности применения

¹⁶ ICH S2 (R1) Genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. EMA/CHMP/ICH/126642/2008.

¹⁷ ICH S2A Note for Guidance on Genotoxicity: Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals. CPMP/ICH/141/95.

технологий геномного редактирования, однако конкретных предложений для решения этих задач на сегодня нет.

Недостаточно разработана проблема возможного влияния генотоксикантов на эпигенетическую регуляцию генома.

К важнейшим фундаментально-ориентированным исследованиям следует отнести изучение механизмов мутагенеза. К примеру, выявление и доказательство опосредованности повреждающих эффектов существенной части генотоксикантов через продукцию экзогенных свободных радикалов (окислительный стресс), представленных активными формами кислорода, переориентировало фокус генотоксикологических исследований с беспороговой модели поражающего действия на пороговую модель, предполагающую относительную безопасность генотоксикантов вне прооксидантных дозировок.

Не менее значимыми с фундаментальной точки зрения являются исследования, направленные на изучение экзогенной регуляции сигнальных и репарационных клеточных систем. Среди первых особенное внимание привлекает транскрипционный фактор Nrf2, рассматриваемый как главный регулятор клеточных защитных механизмов против окислительного стресса, к тому же играющий существенную роль в репарации ДНК [32, 33]. Изучение указанного фактора и выявление новых звеньев сигналинга, направленного на цитопротекцию, могут сыграть существенную роль в понимании возможностей регуляции индуцированного мутагенеза, направленного поиска антимутагенных и комутагенных модификаторов мутагенеза [34–36].

Исследования комутагенных взаимодействий, впервые обозначенных [37] как новая проблема генотоксикологических исследований, до сих пор сведены к случайным находкам и отдельным публикациям. Например, в наших исследованиях показано комутагенное взаимодействие верапамила и рибавирина [38], комутагенные эффекты валокордина и кофеина [39, 40]. В то же время разработка проблемы комутагенеза в рамках общей темы нежелательных эффектов взаимодействия лекарств между собой и с экзогенными, в частности пищевыми, мутагенами имеет большое практическое значение. Не исключено, что накопление фактологического материала в этой области в будущем определит тестирование на комутагенность как составляющее звено в общей схеме тестирования генотоксичности ЛС.

Становление общепринятой системы оценки генотоксичности, произошедшее в начале текущего века, порождает большое количество вопросов к результатам, полученным при испытаниях ранее внедренных ЛС. В большой серии обзоров литературы, выполненных в 2007–2013 гг. под руководством G. Brambilla [41], для примера было показано, что около половины ЛС, применяющихся сегодня, никогда не исследовались на генотоксичность или не были исследованы должным образом и характеризуются противоречивыми и (или) неопределенными результатами. Аналогичный вывод был сделан нами в отношении отдельных групп ЛС в более поздних работах [42, 43].

Таким образом, помимо оценки генотоксичности вновь регистрируемых ЛС существенной проблемой является необходимость оценки генотоксичности уже применяющихся препаратов. Она может иметь выборочный характер, основываться на данных *in silico*, указывающих на структурное сходство с известными генотоксикантами, и (или) затрагивать только ЛС, в отношении генотоксической безопасности которых имеются экспериментально подкрепленные сомнения.

Еще одной общей проблемой современной генотоксикологии ЛС является отсутствие значимых достижений в области информирования врачебной и научной общественности о генотоксичности ЛС. Большинство результатов подобных исследований остаются в распоряжении регуляторных органов и недоступны для независимого научного анализа.

Наконец, несмотря на сложившуюся международную гармонизированную систему исследований генотоксичности, имеется достаточное количество работ, выходящих за рамки протоколов исследований. Например, в исследованиях *in vitro*, помимо хорошо охарактеризованных и верифицированных к генотоксикологическим задачам лимфоцитов периферической крови, клеток китайского хомячка и других, можно встретить необычные тест-системы, в частности эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера или клетки перевиваемых линий. Часто результаты подобных исследований дискредитируют отдельные ЛС и создают напряженность во врачебном сообществе. Значимость подобных работ для характеристики генотоксического потенциала ЛС в процессе разработки и регистрации ЛС не определена, но их результаты могут служить отправной точкой

для углубленного анализа потенциальной генотоксичности того или иного препарата.

Заключение

В последнее десятилетие понимание этиопатогенетической роли генотоксических поражений генома вышло за границы наследственной и онкологической патологий. Все чаще генотоксические поражения рассматривают как наиболее общий фактор, играющий определяющую роль в развитии сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, репродуктивных потерь, фертильности и старения. Это предопределяет актуальность и необходимость проведения генотоксических исследований и их развития во всех упомянутых регуляторных, фундаментальных и поисковых аспектах.

Следует констатировать, что в современной регуляторной практике сложилась и успешно применяется гармонизированная система тестирования генотоксичности вновь создаваемых ЛС, предупреждающая выход на рынок препаратов, не охарактеризованных с генотоксической точки

зрения. Ее развитие возможно путем разработки и внедрения более совершенных методов оценки генотоксических эффектов в генеративных клетках, генных мутаций в эукариотических клетках, расширения границ оценки генотоксичности за счет регистрации комутагенных и эпигенетических эффектов, митохондриального мутагенеза.

Обобщая вышеизложенный материал, следует констатировать, что генотоксикология ЛС является высокозначимой и необходимой частью доклинического исследования безопасности ЛС, она включает регуляторные, фундаментальные и поисковые исследования и направлена на сохранение здоровья человека. Выполнение оценки генотоксичности на доклиническом этапе разработки должно проводиться по общепринятым верифицированным и стандартизированным протоколам. Оценка генетического риска применения, в свою очередь, должна основываться на изучении дозовых зависимостей и механизмов реализации генотоксических эффектов и происходить по принципу case-by-case, поскольку генотоксический профиль каждого соединения уникален.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Дурнев АД, Жанатаев АК, Шредер ОВ, Середенина ВС. Генотоксические поражения и болезни. *Молекулярная медицина*. 2013;(3):3–19. [Durnev AD, Zhanataev AK, Shreder OV, Seredenina VS. Genotoxic events and diseases sicheskie. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*. 2013;(3):3–19 (In Russ.)]
2. Choudhuri S, Kaur T, Jain S, Sharma C, Asthana S. A review on genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chem Biol Interact*. 2021;345:109531. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109531>
3. Dearfield KL, Cimino MC, McCarroll NE, Mauer I, Valcovic LR. Genotoxicity risk assessment: a proposed classification strategy. *Mutat Res*. 2002;521(1–2):121–35. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00236-x](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00236-x)
4. Дурнев АД. Генетическая токсикология. *Вестник РАМН*. 2011;(9):35–44. [Durnev AD. Genetic toxicology. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2011;(9):35–44 (In Russ.)]
5. Ames BN, Gold LS. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutat Res*. 1991;250(1–2):3–16. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90157-j](https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90157-j)
6. Бочков НП, Шрам РИ, Кулешов НП, Журков ВС. Система оценки химических веществ для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки. *Генетика*. 1975;11(10):156–69. [Bochkov NP, Shram RI, Kuleshov NP, Zhurkov VS. Human chemical assessment system: general principles, practical recommendations and further developments. *Genetika = Genetics*. 1975;11(10):156–69 (In Russ.)]
7. Bridges BA. Some general principles of mutagenicity screening and possible framework for testing procedure. *Environ Health Perspect*. 1973;6:221–7. <https://doi.org/10.1289/ehp.7306221>
8. Steiblen G, Benthem JV, Johnson G. Strategies in genotoxicology: acceptance of innovative scientific methods in a regulatory context and from an industrial perspective. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2020;853:503171. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503171>
9. Müller L, Tweats D, Galloway S, Hayashi M. The evolution, scientific reasoning and use of ICH S2 guidelines for genotoxicity testing of pharmaceuticals. In: van der Laan JW, DeGeorge JJ, eds. *Global Approach in Safety Testing: ICH Guidelines Explained*. Springer; 2013.
10. Baldrick P. Genotoxicity test battery – an assessment of its utility in early drug development. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2021;868–869:503388. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503388>
11. Richmond J. Refinement, reduction, and replacement of animal use for regulatory testing: future improvements and implementation within the regulatory framework. *ILAR J*. 2002;43 Suppl:S63–8. https://doi.org/10.1093/ilar.43.suppl_1.s63
12. McCann J, Ames BN. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella microsome test: assay of 300 chemicals: discussion. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1976;73(3):950–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.3.950>

13. McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals: discussion. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1975;72(12):5135–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.12.5135>
14. Kirkland D, Aardema M, Henderson L, Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity. *Mutat Res*. 2005;584(1–2):1–256. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.02.004>
15. Kirkland D, Pfuhler S, Tweats D, Aardema M, Corvi R, Darroudi F, et al. How to reduce false positive results when undertaking in vitro genotoxicity testing and thus avoid unnecessary follow-up animal tests: report of an ECVAM workshop. *Mutat Res*. 2007;628(1):31–55. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.11.008>
16. Fischer I, Milton C, Wallace H. Toxicity testing is evolving! *Toxicol Res (Camb)*. 2020;9(2):67–80. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa011>
17. Dertinger SD, Bhalli JA, Roberts DJ, Stankowski LF, Gollapudi BB, Lovell DP, et al. Recommendations for conducting the rodent erythrocyte Pig-a assay: a report from the HESI GTTC Pig-a Workgroup. *Environ Mol Mutagen*. 2021;62(3):227–37. <https://doi.org/10.1002/em.22427>
18. Salk JJ, Kennedy SR. Next-generation genotoxicology: using modern sequencing technologies to assess somatic mutagenesis and cancer risk. *Environ Mol Mutagen*. 2020;61(1):135–51. <https://doi.org/10.1002/em.22342>
19. Heflich RH, Johnson GE, Zeller A, Marchetti F, Douglas GR, Witt KL, et al. Mutation as a toxicological endpoint for regulatory decision-making. *Environ Mol Mutagen*. 2020;61(1):34–41. <https://doi.org/10.1002/em.22338>
20. Morita T, Hamada S, Masumura K. Evaluation of the sensitivity and specificity of in vivo erythrocyte micronucleus and transgenic rodent gene mutation tests to detect rodent carcinogens. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2016;802:1–29. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.03.008>
21. Kirkland D, Zeiger E, Madia F, Corvi R. Can in vitro mammalian cell genotoxicity test results be used to complement positive results in the Ames test and help predict carcinogenic or in vivo genotoxic activity? II. Construction and analysis of a consolidated database. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2014;775–776:69–80. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.10.006>
22. Kirkland D, Uno Y, Luijten M, Beevers C, van Benthem J, Burlinson B, et al. In vivo genotoxicity testing strategies: Report from the 7th International workshop on genotoxicity testing (IWGT). *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2019;847:403035. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.03.008>
23. Elespuru R, Pfuhler S, Aardema MJ, Chen T, Doak SH, Doherty A, et al. Genotoxicity assessment of nanomaterials: recommendations on best practices, assays, and methods. *Toxicol Sci*. 2018;164(2):391–416. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy100>
24. Goodman JJ. Goodbye to the bioassay. *Toxicol Res (Camb)*. 2018;7(4):558–64. Erratum in: *Toxicol Res (Camb)*. 2018;7(5):994. <https://doi.org/10.1039/c8tx00004b>
25. MacGregor JT, Frötschl R, White PA, Crump KS, Eastmond DA, Fukushima S, et al. IWGT report on quantitative approaches to genotoxicity risk assessment I. Methods and metrics for defining exposure-response relationships and points of departure (PoDs). *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015;783:55–65. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.09.011>
26. Adler ID, Ashby J. The present lack of evidence for unique rodent germ-cell mutagens. *Mutat. Res*. 1989;212(1):55–66. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(89\)90022-5](https://doi.org/10.1016/0027-5107(89)90022-5)
27. Yauk CL, Aardema MJ, Benthem J, Bishop JB, Dearfield KL, DeMarini DM, et al. Approaches for identifying germ cell mutagens: report of the 2013 IWGT workshop on germ cell assays. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015;783:36–54. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.01.008>
28. Дурнев АД. Анализ и значение мутаций в зародышевых клетках. *Медицинская генетика*. 2011;(2):3–11. [Durnev AD. Analysis and importance of germ cells mutations. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetics*. 2011;(2):3–11 (In Russ.)]
29. Adler ID, Carere A, Eichenlaub-Ritter U, Pacchierotti F. Gender differences in the induction of chromosomal aberrations and gene mutations in rodent germ cells. *Environ Res*. 2007;104(1):37–45. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.08.010>
30. Sudman PD, Generoso WM. Female-specific chemical mutagens. *Environ Mol Mutagen*. 1990;15 Suppl 17:58.
31. Плигина КЛ, Жанатаев АК, Чайка ЗВ, Дурнев АД. Методика цитогенетического анализа ооцитов мышей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;156(7):128–32. [Pligina KL, Zhannataev AK, Chaika ZV, Durnev AD. Method of cytogenetic assay of mouse oocytes. *Bulleten eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013;156(7):128–32 (In Russ.)]
32. Турпаев КТ. Сигнальная система Keap1-Nrf2. Механизмы регуляции и значение для защиты клеток от токсического действия ксенобиотиков и электрофильных соединений. *Биохимия*. 2013;78(2):147–66. [Turpaev KT. Keap1-Nrf2 signaling pathway: mechanisms of regulation and role in protection of cells against toxicity caused by xenobiotics and electrophiles. *Biokhimiya = Biochemistry*. 2013;78(2):147–66 (In Russ.)]
33. Shaw P, Chattopadhyay A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: Mechanism of action and the regulatory mechanisms. *J Cell Physiol*. 2020;235(4):3119–30. <https://doi.org/10.1002/jcp.29219>
34. Дурнев АД. Антимутагенез и антимутагены. *Физиология человека*. 2018;44(3):116–37. [Durnev AD. Antimutagenesis and antimutagens. *Fiziologiya cheloveka = Human Physiology*. 2018;44(3):116–37 (In Russ.)] <https://doi.org/10.7868/S013116461803013X>
35. Дурнев АД. Фармакология мутагенеза. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(2):8–14. [Durnev AD. Pharmacology of mutagenesis. *Eksperimental'naya i*

- klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(2):8–14 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2021-84-2-8-14>
36. Дурнев АД, Середенин СБ. Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействий. М.: Медицина; 1998. [Durnev AD, Seredenin SB. Mutagens: screening and pharmacological prevention of exposures. Moscow: Meditsina; 1998 (In Russ.)]
37. Дурнев АД, Середенин СБ. Комутагенез – новое направление исследований в генотоксикологии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2003;135(6):604–12. [Durnev AD, Seredenin SB. Co-mutagenesis as new vistas in genotoxicology. *Bulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2003;135(6):604–12 (In Russ.)]
38. Дурнев АД, Даугель-Дауге НО, Середенин СБ. Комутагенное взаимодействие верапамила и рибавирина. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006;69(1):56–9. [Durnev AD, Daugel'-Dauge NO, Seredenin SB. Comutagen interaction of verapamil and ribavirin. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2006;69(1):56–9 (In Russ.)]
39. Дурнев АД, Даугель-Дауге НО, Жанатаев АК, Лапицкая АС, Середенин СБ. Комутагенные эффекты валокордина. *Экологическая генетика*. 2012;10(3):53–8. [Durnev AD, Daugel'-Dauge NO, Zhanataev AK, Lapitskaya AS, Seredenin SB. Comutagenic effects of valocordin. *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*. 2012;10(3):53–8 (In Russ.)]
40. Дурнев АД, Кулакова АВ, Жанатаев АК, Оганесянц ЛА. Оценка цитогенетической и мутаген-модифицирующей активности кофеина в клетках костного мозга мышей. *Гигиена и санитария*. 2015;94(3):106–10. [Durnev AD, Kulakova AV, Zhanataev AK, Oganesyants LA. Evaluation of the cytogenetic and mutagen-modifying activity of caffeine in mouse bone marrow cells. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2015;94(3):106–10 (In Russ.)]
41. Brambilla G, Mattioli F, Robbiano L, Martelli A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of bronchodilators and antiasthma drugs. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2013;112(5):302–13. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12054>
42. Еремина НВ, Жанатаев АК, Лисицын АА, Дурнев АД. Генотоксические свойства гипогликемических лекарств (систематический обзор). *Экологическая генетика*. 2021;19(3):219–40. [Eremina NV, Zhanataev AK, Lisitsyn AA, Durnev AD. Genotoxic properties of hypoglycemic drugs (systematic review). *Ekologicheskaya genetika = Ecological Genetics*. 2021;19(3):219–40 (In Russ.)] <https://doi.org/10.17816/ecogen70691>
43. Дурнев АД, Еремина НВ, Жанатаев АК, Колик ЛГ. Генотоксичность психотропных лекарств в экспериментальных и клинических исследованиях (в печати). [Durnev AD, Eremina NV, Zhanataev AK, Kolik LG. Genotoxicity of psychotropic drugs in experimental and clinical studies (article is being published) (In Russ.)]

Вклад авторов. А.Д. Дурнев – идея и написание текста рукописи, доработка текста, научное редактирование рукописи; А.К. Жанатаев – доработка текста рукописи, подготовка табличного материала и рисунков, научное редактирование рукописи.

Благодарности. Авторы благодарят старшего научного сотрудника отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» Н.В. Еремину за помощь в оформлении и подготовке рукописи к печати. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» на проведение научных исследований по теме «Доклиническая оценка безопасности лекарств и экспериментальная разработка средств для здоровья-сбережения и профилактики заболеваний, обусловленных взаимодействием организма с неблагоприятными факторами окружающей среды» (номер государственного учета НИР 122020100334-2).

Authors' contributions. Andrey D. Durnev—elaboration of the study concept, writing, revision, and scientific editing of the text; Aliy K. Zhanataev—revision and scientific editing of the text, preparation of tables and figures.

Acknowledgements. The authors are grateful to N.V. Eremina, Senior Researcher of the Department of Medicinal Toxicology of V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, for her help in forming and preparation of the paper for publication. The study was carried out by V.V. Zakusov Institute of Pharmacology within the framework of the publicly funded research project “Drug safety preclinical assessment and experimental development of health promotion solutions and prevention of diseases caused by adverse environmental factors” (R&D public accounting No. 122020100334-2).

Конфликт интересов. А.Д. Дурнев является членом редколлегии журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», А.К. Жанатаев заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Andrey D. Durnev is a member of the Editorial Board of *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*, Aliy K. Zhanataev declares no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Дурнев Андрей Дмитриевич, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>
addurnev@mail.ru

Жанатаев Алий Курманович, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
azhanataev@yandex.ru

Andrey D. Durnev, Corresponding Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>
addurnev@mail.ru

Aliy K. Zhanataev, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
azhanataev@yandex.ru

Статья поступила 23.11.2021

После доработки 22.12.2021

Принята к печати 04.03.2022

Article was received 23 November 2021

Revised 22 December 2021

Accepted for publication 4 March 2022

АКТУАЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ученые Центра геномных исследований в Нью-Йорке и Нью-Йоркского Университета опубликовали в журнале *Nature* результаты скрининга около 12 000 различных генов во множестве субпопуляций Т-клеток для идентификации генов, которые смогут усиливать иммунные клетки и повышать их устойчивость и способность к уничтожению опухолевых клеток (Legut, M., Gajic, Z., Guarino, M. et al. A genome-scale screen for synthetic drivers of T cell proliferation. *Nature*. 2022;603(7902):728–35. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04494-7>). Предшествующие исследования по разработке препаратов на основе Т-клеток ставили целью уничтожение определенных опухолей за счет тщательного выбора опухолеспецифичных или тканеспецифичных белков (антигенов).

За последние 30 лет FDA зарегистрировало несколько препаратов на основе Т-клеток, модифицированных химерным антигенным рецептором (CAR), но остается нерешенным вопрос о значительном количестве пациентов, для которых не удается добиться длительной ремиссии после использования терапии CAR-T клетками. Американские ученые выбрали другой подход и вместо того, чтобы модифицировать антитело, решили использовать гены, которые влияют на активность и продолжительность действия Т-клеток. Так, например, рецептор лимфотоксина-бета (LTBR) влияет на размножение, активность и устойчивость Т-клеток, а также на выработку ими цитокинов, которые играют большую роль в противоопухолевом действии препаратов. Авторы исследования полагают, что полученные ими результаты являются важным шагом для разработки CAR-T терапии нового поколения.

Публикуется по: <https://www.worldpharmanews.com> от 16.03.2022