



موردی بر روشهای ارزیابی سمیت مواد شیمیایی، گذار از روشهای اینویتو و به روشهای نوین اینویترو

شهرناز باکند^۱، احمد عامری^۲، علی اصغر فرشاد^۳

چکیده

تماس با مواد و آلاینده‌های شیمیایی یکی از عوامل مهم در به خطر افتادن سلامتی افراد می‌باشد. علی‌رغم پیشرفت گستردگی ارزیابی خطر مواد شیمیایی، اطلاعات سمشناسی، خصوصاً در زمینه مواد شیمیایی صنعتی بسیار محدود می‌باشد. امروزه بیش از ۸۰۰۰ ماده شیمیایی با مصارف تجاری و تعداد بسیار زیادی ترکیبات شیمیایی وجود دارد. ارزیابی خطرات سمی این مواد با استفاده از مطالعات حیوانی بدلاً لی مختلف علمی، اقتصادی و اخلاقی محدود نمی‌باشد. بنابراین، با افزایش روزافزون مواد شیمیایی، ترکیبات و فرآورده‌های جدید ضرورت استفاده از روشهای نوین در سمشناسی که بتواند جایگزین مطالعات حیوانی شود ضرورت بیشتری یافته است. تحقیقات اخیر نشان داده است که روشهای نوین سمشناسی از جمله روشهای اینویترو دارای قابلیت زیادی در اندازه‌گیری و ارزیابی سمیت مواد شیمیایی بوده و قادر هستند اطلاعات وسیعی را در مدت زمان کوتاه‌تری فراهم نمایند. در این مطالعه، موردی بر روشهای متداول در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی انجام شده و قابلیت روشهای سمشناسی اینویترو در این زمینه مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. با وجود دیکه روشهای سمشناسی اینویترو نمیتوانند دقیقاً نمایانگر پیچیدگی موجود در یک ارگانیسم زنده باشند، این روشهای همراه دانش مربوط به ساختار مولکولی و سمیت مواد (QSARs) و توکسیکوکنیتیک مواد شیمیایی (PBTK) قابلیت این را دارند که بطور گسترده‌ای در ارزیابی خطر تماس با مواد شیمیایی بکار گرفته شوند.

کلیدواژه‌ها : آلاینده‌های شیمیایی، ارزیابی خطر، سمشناسی، اینویترو، اینویتو

مورد مواد شیمیایی صنعتی، دسترسی به این اطلاعات بسیار محدود می‌باشد^(۴,۵,۶). روشهای قدیمی و متداول اندازه‌گیری سمیت مواد شیمیایی مبتنی بر استفاده از مطالعات حیوانی می‌باشد. علاوه بر دلایل اخلاقی، استفاده بیش از حد از اطلاعات حیوانی در سمشناسی مورد انتقاد مجتمع علمی قرار گرفته است^(۷,۸). امروزه بیش از ۸۰,۰۰۰ ماده شیمیایی با مصارف تجاری و تعداد بسیار زیادی ترکیبات شیمیایی وجود دارد^(۹) بطوریکه ارزیابی خطرات سمی این مواد با استفاده از مطالعات حیوانی محدود نمی‌باشد. بنابراین، با افزایش روزافزون مواد شیمیایی، ترکیبات و فرآورده‌های جدید ضرورت استفاده از روشهای نوین در سمشناسی که بتواند جایگزین مطالعات حیوانی شود ضرورت بیشتری یافته است. امروزه روشهای نوین سمشناسی از جمله روشهای اینویترو (*In vitro*) قادر

مقدمه

گرچه رشد روز افزون در سنتز مواد و فرآورده‌های شیمیایی مانند مواد دارویی، حشره‌کش‌ها و محصولات خانگی کیفیت زندگی انسان را بهبود بخشیده است، تماس با تعداد بیشمار مواد شیمیایی و سنتز شده سلامت انسان و محیط را به مخاطره‌انداخته است. تماس با مواد شیمیایی در محیط‌های کار و محیط‌های آزاد یکی از عوامل مهم در به خطر افتادن سلامتی افراد بوده و می‌تواند طیف وسیعی از مشکلات تنفسی، ناراحتی‌های پوستی و بیماری‌های سیستمیک را ایجاد نماید^(۱,۲,۳). در حالیکه ارزیابی سمیت مواد شیمیایی مستلزم داشتن اطلاعات سمشناسی می‌باشد، در بسیاری از موارد، خصوصاً در

۱- (نویسنده مسئول)، استادیار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران (email: bakand183@yahoo.com)

۲- عضوهای علمی گروه بهداشت حرفة‌ای دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳- دانشیار گروه بهداشت حرفة‌ای دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ایران

استفاده می شود (۱۲). سم شناسی دانشی است که پیوسته در حال تحول بوده، بطوریکه در سم شناسی مدرن پاسخهای سلولی و مولکولی به عنوان نشانگرهای اولیه در تماس با مواد شیمیایی خارجی مورد بررسی قرار می گیرد. امروزه روشهای سم شناسی اینویترو، با استفاده از تکنیکهای کشت سلول به همراه دانش مربوط به ساختار مولکولی و سمیت مواد و روشهای توکسیکوکینتیک در سم شناسی مدرن ارتقا یافته و بکار گرفته می شوند. پیشرفتهای علم سم شناسی ناشی از گسترش دانش و ارتقاء تکنیکهای آزمایشگاهی در زمینه علوم مختلف مانند بیولوژی، شیمی، ریاضی و فیزیک می باشد. سم شناسی علمی با دامنه های بسیار وسیع از نظر دیسپلین، کاربردها و روشها می باشد. از نقطه نظر متداولوژیکی سم شناسی از مطالعات حیوانی یا اینویتو را روشهای نوین اینویترو متفاوت می باشد.

مطالعات حیوانی یا روشهای اینویتو (In vivo) روشهای قدیمی سم شناسی مبتنی بر مطالعه اثرات مواد سمی بر روی حیوانات آزمایشگاهی بوده و بطورکلی بر این فرض استوار است که یک ماده شیمیایی اگر قادر به ایجاد اثرات سمی بر روی حیوانات آزمایشگاهی باشد می تواند همان اثرات یا اثرات مشابهی را روی انسان نیز ایجاد نماید. بنابراین می توان اطلاعات بدست آمده روی حیوانات را با روشهای مختلف برای انسان برونو یابی نموده و تعمیم داد. اینگونه مطالعات برای اولین بار در سال ۱۹۲۷ توسط فردی به نام تروان (Trevan) آغاز شد. وی برای اولین بار تست LD₅₀ %۵۰ (Lethal Dose) را معرفی نمود (۱۳).

دوز کشیده یا LD₅₀ عبارتست از غلظتی از یک ماده شیمیایی است که قادر است %۵۰ از حیوانات در معرض تماس را بکشد. از آنجاکه این تست می تواند اطلاعات مفیدی را از سمیت یک ماده بدست دهد این آزمایش معمولاً در مورد مواد شیمیایی جدید انجام می گیرد. این تست شامل تجویز دوزهای متفاوت و فزاینده یک ماده شیمیایی به حیوانات آزمایشگاهی بوده و در نهایت دوزی که قادر است %۵۰ از حیوانات مورد مطالعه را بکشد تعیین می گردد (۱۴). در گزارش نمودن LD₅₀ معمولاً باید راه تماس (خوراکی یا پوستی) حیوان مورد مطالعه و واحد اندازه گیری دوز (معمولًا mg/kg وزن بدن) مشخص گردد.

هستند اطلاعات وسیعی را در زمان کوتاهتری فراهم نمایند. با این وجود در تدوین دستورالعملهای استاندارد هنوز هم در جایگزین نمودن این روشها با احتیاط عمل می شود. در این مطالعه، مروری بر روشهای متداول در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی صورت گرفته و قابلیتهای روشهای سم شناسی اینویترو در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش برووسی

با وجودیکه اطلاعات بدست آمده از مطالعات انسانی در ارزیابی اثرات سمی مواد و آلاینده های شیمیایی بسیار ارزشمند می باشد، اطلاعات انسانی همواره موجود و در دسترس نمی باشد. به علاوه، تجربیات ناخوشایند گذشته انسان مانند تماس با مواد دارویی چون تالیدومید و یا مواد صنعتی و آلاینده هایی نظیر آزبست، سرب و بی فنیل های پلی کلرینه (PCBs) ثابت نموده است که اثرات مواد شیمیایی و فرآورده های جدید باید به موقع و پیش از بروز عوارض نامطلوب بر انسان مشخص گردد (۱۰).

بنابراین، به عنوان یک استراتژی مهم در پیشگیری، ایجاد و ارتقاء روشهای نوین در سم شناسی که بتوانند اطلاعات ضروری را در شناسایی خطرات مواد شیمیایی فراهم نموده و از نظر زمان و هزینه نیز مقرر بصرفة باشند از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. هیچ روشی به تنها نمی تواند تأمین کننده اطلاعات کامل سم شناسی در زمینه شناسایی مواد شیمیایی و ارزیابی اثرات آنها بر روی انسان باشد (۱۱). بطورکلی، این اطلاعات با استفاده از روشهای مختلف نظیر مطالعات سم شناسی، اپیدمیولوژیکی، ارتباط ساختار مولکولی و سمیت مواد Quantitative structure activity relationships (QSARs؛ toxicokinetics (PBTK؛ Physiologically based می باشد.

از سالیان گذشته مطالعات سم شناسی نقش مهمی را در فراهم نمودن اطلاعات سمیت مواد شیمیایی داشته است. سم شناسی (Toxicology) علم شناسایی مواد سمی، یا بطور دقیقتر، مطالعه اثرات نامطلوب مواد شیمیایی بر روی سیستمهای بیولوژیکی می باشد. امروزه در سم شناسی از ارزیابی ریسک (Risk Assessment) به عنوان یک روش سیستماتیک و علمی برای شناسایی و اندازه گیری پتانسیل خطر مواد شیمیایی



فاکتورهای عدم اطمینان همراه می باشد که ناشی از تفاوت های بیولوژیکی میان انسان و حیوان می باشد (۷). علاوه بر این، اعتبار برون یابی از دوز یا غلظتهاي بالا به غلظتهاي واقعی و پایین تماس، خصوصاً در موارديکه اين برون یابي توسط اطلاعات مربوط به مكانیسم سمیت حمایت نشده اند مورد سؤال واقع می شوند (۱۶). گرچه شدت يك اثر سمی معمولاً متناسب است با میزان تماس، اختلافات بیولوژیکی بین دوزهاي بالا و پایین باید مورد توجه قرار گیرند. از گذشته سه شناسان سعی کرده اند که با بکارگیری فاکتورهای عدم اطمینان factors (Uncertainty) در تدوین استانداردهای مواد شیمیایی تا حدودی بر این مشکلات فایق آیند (۱۲، ۱۶).

روشهای سه شناسی اینویترو (In vitro) از اواسط دهه ۱۹۸۰ روشهای سه شناسی حیوانی بتدریج جای خود را به روشهای نوین سه شناسی از جمله روشهای اینویترو داد (۱۷). در این روشهای استفاده از بکارگیری روشهای بیوتکنولوژی و استفاده از کشت سلولی، بافت یا ارگان اثرات سمی مواد شیمیایی مورد شرایط طوری فراهم می شود که سلول یا بافت بتواند خارج از بدن زنده مانده، رشد نموده و عملکرد طبیعی خود را نیز حفظ نماید. این شرایط آزمایشگاهی اوایل در شیشه یا لوله آزمایش و اخیراً در پلاستیک یا فلاسکهای کشت سلول ایجاد می گردد. به کاربرد روشهای کشت سلول در مطالعات سه شناسی روشهای اینویترو گفته می شود. به موازات گسترش روشهای کشت سلول طی دو دهه گذشته روشهای سه شناسی اینویترو نیز گسترش و کاربرد روزافزون پیدا کرده است (۱۱، ۱۸).

گذشته از پیشرفت های علمی، عوامل دیگری نظیر جلوگیری از آزار و اذیت حیوانات بمنظور حمایت از آنها، افزایش روز

به همین ترتیب، به منظور شناسایی اثرات سمی آلانده های هوا، باید تست های سمیت از راه استنشاقی روی حیوانات صورت گیرد. بدین منظور حیوانات مورد آزمایش در تماش با غلظتهاي متفاوت ماده شیمیایی قرار داده شده و پس از استنشاق هوای آلوده، غلظتی که موجب مرگ و میر ۵۰٪ از آنها می شود را تحت عنوان غلظت کشنده یا LC_{50} (Lethal Dose %۵۰) مشخص می نمایند.

اطلاعات بدست آمده از اینگونه مطالعات معمولاً برای طبقه بندی، برچسب گذاری و ارزیابی ریسک مواد شیمیایی بکار برده می شود. اخیراً، یک سیستم جهانی هماهنگ (GHS)، بر اساس سمیت حاد مواد شیمیایی، برای طبقه بندی مواد شیمیایی ارائه شده است (۱۵). در این سیستم، بر حسب مقادیر LC_{50} یا LD_{50} یا LD_{50} معيارهایی برای طبقه بندی مواد شیمیایی در پنج گروه مختلف تعیین گردیده است (جدول ۱). به کارگیری سیستم طبقه بندی GHS موجب ارتقاء سطح سلامت انسان و محیط خواهد شد.

در سالهای اخیر مطالعات حیوانی، خصوصاً استفاده از تست هایی نظری LD_{50} ، بدلاً لیل مختلف علمی، اخلاقی و اقتصادی مورد انتقاد قرار گرفته و جوابگوی تعداد بیشمار مواد و ترکیبات شیمیایی نمی باشد. به همین دلیل سازمان ارتقاء اقتصاد و تعاون (OECD) ۳ روش جدید را برای جایگزین کردن روش قدیمی سمیت حاد از راه خوراکی [۴۰] و به منظور کاهش تعداد حیوانات برای تست یک ماده شیمیایی ارائه نموده است (۲۰۰۱a). این روشهای شامل روش دوز ثابت [۴۲۰]، روش سمیت حاد [۴۲۲] و روش بالا و پایین [۴۲۵] میباشد.

استفاده بیش از حد از اطلاعات حیوانی در مطالعات سه شناسی توسط جوامع علمی مورد انتقاد قرار گرفته است. پیش بینی عملکرد بیولوژیکی ماده سمی در بدن انسان با استناد به اطلاعات حیوانی همواره با یک سری

طبقه بندی					نحوه تماس	
۵	۴	۳	۲	۱	mg/kg	خوراکی
۵۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰	۵۰	۵	mg/kg	خوراکی
N/A	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰	۵۰	mg/kg	پوستی
N/A	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰	(ppm)	گازها
N/A	۲۰	۱۰	۲/۰	۰/۵	(mg/l)	بخارات
N/A	۵	۱/۰	۰/۵	۰/۰۵	(mg/l)	گردوغبار / میست
Not Applicable = N/A						

جدول ۱- سیستم GHS برای طبقه بندی سمیت حاد مواد شیمیایی

گوناگون در سطوح مختلف مولکولی، سلولی، بافت و ارگان شده و عملکرد آنها را تحت تأثیر قرار دهد. سمیت سلولی عبارت از اثرات سوء ناشی از یک ماده شیمیایی در ساختار یا فرآیندهای لازم برای ابقاء، رشد و عملکرد سلولی می‌باشد (۲۱). آزمایشات مختلفی برای ارزیابی پتانسیل سمیت مواد شیمیایی با استفاده از روش‌های اینویترو بوجود آمده است که با استفاده از هر یک می‌توان شاخصهای مختلفی را اندازه‌گیری نمود (جدول ۲، ۸، ۲۲).

در سالهای اخیر، تحقیقات در زمینه مرگ برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) بطور شکری دانش انسان را در زمینه مرگ سلولی متحول نموده که نهایتاً منجر به ارتقاء شاخصهای سم شناسی مبتنی بر مکانیسم سمیت‌گردیده است. بسیاری از تغییرات ساختاری و بیولوژیکی که ممکن است در سطح غشاء سلولی، پروتئین‌آزهای بخصوص و DNA اتفاق بیفتد می‌تواند به عنوان شاخصهای بیولوژیکی برای اندازه‌گیری آپوپتوزیس مورد استفاده قرار گیرد (۲۳، ۲۴).

کاربرد روش‌های سم شناسی اینویترو
در ابتداء روش‌های اینویترو برای مطالعه مکانیسم عمل مواد شیمیایی در سطح سلولی و مولکولی بوجود آمدند (۲۵). به مرور، این روش‌های رسانایر فیلدها نظری بیولوژی کانسر، کشف داروها و سم شناسی نیز بکار گرفته شدند. در سم شناسی اولین بار برای شناسایی خواص جهش زایی مواد شیمیایی از روش‌های اینویترو استفاده شد (۲۶، ۲۷). در حال حاضر روش‌های اینویترو شامل طیف وسیعی بوده که می‌تواند برای مطالعه سمیت حاد موضوعی و سیستمیک مواد بکار رود. سمیت سلولی، تولید مثل، جهش زایی، تست تحریک پذیری، ایمونولوژی و سمیت ارگان هدف، اصلی‌ترین قلمروهای سم شناسی اینویترو می‌باشد (۲۸).

کاربرد روش‌های اینویترو با یک سری محدودیتها و مشکلات نیز توأم می‌باشد. یکی از محدودیتها این است که سلولهای کشت داده شده سیستمهای زنده بسیار ساده‌ای هستند که نمی‌توانند بطور کامل پیچیدگی موجود در یک ارگانیسم زنده را نشان دهند. بدلیل فقدان مسیر بیوترانسفورماسیون یک سیستم اینویترو نمی‌تواند بطور دقیق بیوپتینامیک موجود در بدن انسان را تقلید نماید. به هر حال، به کارگیری ابزارهای پیش‌بینی

افزون استفاده از مواد شیمیایی و لزوم ارزیابی خطرات این مواد از عوامل مؤثر در گسترش روش‌های اینویترو بوده است.

در سال ۱۹۵۹ دو دانشمند انگلیسی به نامهای راسل و برج (Russel & Bruch) اصولی را تحت عنوان 3Rs مطرح نمودند که پایه‌ای برای تجدید نظر در بکارگیری حیوانات آزمایشگاهی در مطالعات و تحقیقات آزمایشگاهی بود (۹). این اصول عبارتند از کاهش تعداد حیوانات در تحقیقات آزمایشگاهی (Reduction)، تصفیه (Refinement) و تجدید نظر دستورالعملها به منظور کاهش آزار و اذیت حیوانات و جایگزینی (Replacement) مطالعات حیوانی با سایر روش‌ها از جمله روش‌های اینویترو می‌باشد. در ابتدا اصول معرفی شده توسط این دو دانشمند مورد توجه قرار نگرفت ولی با گسترش تشكلات حمایت از حیوانات در اواسط دهه ۱۹۷۰ استفاده از مطالعات حیوانی بدلاً لیل اخلاقی مورد انتقاد قرار گرفت و اهمیت توجه به اصول 3Rs بیش از پیش مشخص گردید.

بطور کلی گسترش روش‌های اینویترو تحت تأثیر عوامل مختلفی بوده است که بدون شک حرکتهای اجتماعی به منظور حمایت از حیوانات یکی از عوامل مؤثر در این زمینه بوده است. عامل دیگر افزایش روزافزون تعداد مواد شیمیایی و فرآورده‌های جدید و لزوم ارزیابی ریسک این مواد می‌باشد. سالیانه هزاران ماده شیمیایی مختلف مانند مواد آرایشی، دارویی، حشره‌کشها، مواد مصرفی وارد بازار مصرف می‌شوند. با در نظر گرفتن حدود ۸۰,۰۰۰ ماده شیمیایی تجاری (۹) و همچنین تعداد بسیار زیاد مواد شیمیایی ترکیبی و تماس با آلاینده‌های توان، ارزیابی سمیت این تعداد با استفاده از مطالعات حیوانی مقدور نبوده و مستلزم آزمایشات بسیار پرهزینه، زمان برد و در بسیاری موارد غیر اخلاقی روی حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. بسیاری از مواد شیمیایی تنها بدلیل هزینه‌ی بسیار بالایی که مطالعات حیوانی در بر دارد هیچ‌گاه مورد آزمایش قرار نگرفته اند (۲۰). ضرورت تعیین پتانسیل اثرات سمعی این تعداد بیشمار مواد نیاز به ارتقای روش‌های نوین سم شناسی را بیش از پیش مشخص می‌نماید.

آزمایشات سم شناسی اینویترو
تماس با مواد شیمیایی می‌تواند موجب آسیبهای

- شیمیایی بدست دهد.
- نسبتاً ساده‌تر بوده و در مدت زمان کمتری انجام می‌گیرند.
- از نظر اقتصادی بیشتر مقرن به صرفه هستند.
- برای مطالعه مکانیسم‌های سم شناسی مناسب می‌باشدند.
- برای مطالعه سمیت توازن مواد شیمیایی (toxicity) برای مطالعه سمیت توازن مواد شیمیایی (Chemical mixture) دارای قابلیت بسیار زیادی می‌باشدند.

با توجه به قابلیتهای فوق روش‌های سم شناسی اینویترو کاربردهای بسیار گسترده‌ای داشته و می‌توانند در غربالگری مواد (Screening) درجه بندی سمیت مواد شیمیایی (Toxicity ranking) و بطور کلی در ارزیابی ریسک (Risk assessment) مواد شیمیایی و فرآورده‌های مختلف بکار گرفته شوند. این روش‌ها قابلیت

کنندگان روشهای توکسیکوکینتیک با اتكا به دانش Distribution, Metabolism, and Excretion) ADME (Absorption, متabolism و دفع می‌توانند به بروز یابی نتایج اینویترو کمک نماید (۸، ۲۵). استفاده از روش‌های QSARs با توجه به ساختار مولکولی مواد شیمیایی نیز گاهی می‌تواند اطلاعات مفیدی را در ارزیابی پتانسیل سمیت مواد بدست دهد.

روشهای سم شناسی اینویترو در مقایسه با روش‌های قدیمی مطالعات حیوانی دارای قابلیتهای زیر می‌باشند (۸):

– در این روش‌ها در صورت بکارگیری سلولها و بافت‌های انسانی نیازی به بروز یابی از حیوان به انسان (Inter-species extrapolation) نبوده، بنابراین می‌توانند اطلاعات واقعی تری برای ارزیابی خطر مواد

شاخص بیولوژیک	روش شناسایی
مرفوولوژی سلول	شكل و اندازه سلول تماس سلولها تعداد هسته، اندازه، شکل و محتويات آن واکولاسیون هسته و سیتوپلاسم
حيات سلول	برون داری رنگ تربین آبی آبشام دی استیل فلورسین شمارش سلول راندمان کشت مجدد
متabolیسم سلول	یکپارچگی میتوکندری (آزمایشات نمک تترازولیوم مانند (MTT, MTS, XTT)، فعالیت لیزرزوم و دستگاه کلژی (آبشام رنگ قرمز ختنی) کاهش فعال کننده‌ها (مانند میزان ATP)
نشست از غشاء سلول	از دست رفتن آنزیمها (مانند LDH)، یونها یا فعال کننده‌ها (مانند (Ca ²⁺ , K ⁺ , NADPH) نشست مارکرهای نشان‌گذاری شده (مانند کروم ⁵¹ یا فلورسین)
تکثیر سلول	شمارش سلول میزان پروتئین کل (مانند متیلن آبی، کومازی آبی و کاتسیک آبی) میزان DNA (مانند Hoechst 33342) تشکیل کلونی
چسبیدگی سلول	چسبیدگی به سطح کشت جدایی از سطح کشت چسبیدگی سلول با سلول
الحاقي راديوايزوتوبها	الحاقي تیمیدین به DNA الحاقي بوریدین به DNA الحاقي آمينواسیدها به پروتئين ها

جدول ۲- شاخصهای بیولوژیکی متداول قابل اندازه‌گیری با استفاده از روش‌های اینویترو

روشهای نوین سمشناسی از جمله روشهای اینویترو قادر هستند اطلاعات وسیعی را در مدت زمان کوتاهتری فراهم نمایند. با وجودیکه روشهای سمشناسی اینویترو نمیتوانند دقیقاً نمایانگر پیچیدگی موجود در یک ارگانیسم زنده باشند، این روشهای همراه داشت مربوط به ساختار مولکولی و سمیت مواد (QSARs) و توکسیکوکیнетیک مواد شیمیایی (PBTK) قابلیت این را دارند که بطور گسترده‌ای در ارزیابی خطر تماس با مواد شیمیایی بکار گرفته شوند. همچنین بکارگیری روشهای توکسیکوکیнетیک می‌تواند یک پایه علمی برای برونو یا بیلولوژیکی مسیر میان تماس غلظتها را اینویترو با قابلیت ایجاد سمیت سلولی به دوزهای معادل در شرایط اینویتو را فراهم آورد.

منابع

1. Klaassen, C.D., editor. Casarett and Doull's toxicology: the Basic Science of Poisons, sixth edition. Mc Graw-Hill, New York. 2001.
2. Greenberg, M.I., Hamilton, R.J., Phillips, S.D., McCluskey, G.J., editors. Occupational, Industrial, and Environmental Toxicology, 2ed. Mosby, Inc, Philadelphia, Pennsylvania. 2003.
3. Winder, C., Stacey, N.H., editors. Occupational Toxicology, 2 ed. CRC Press, Boca Raton. 2004.
4. NTP. Toxicology Testing Strategies to Determine Needs and Priorities. National Toxicology Program, National Research Council, Washington. 1984.
5. Agrawal, M.R., Winder, C. The frequency and occurrence of LD50 values for materials in the workplace. Journal of Applied Toxicology, 1996.
6. EPA, Chemical Hazard Availability Study. US Environmental Protection Agency, Office of Pollution Prevention and Toxics, Washington DC. 1998.
7. Blaauw, B.J., The applicability of in vitro-derived data in hazard identification and characterisation of chemicals. Environmental Toxicology and Pharmacology 11: 213-225, 2002.
8. Bakand, S., Winder, C., Khalil, C. and Hayes, A., Toxicity assessment of industrial chemicals and airborne contaminants; transition from in vivo to in vitro test methods: A Review. Inhalation Toxicology, 17: 13, 775-787, 2005.
9. NTP, The National Toxicology Program Annual Plan Fiscal Year 2001. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, NIH publication No. 02-5092, Washington. 2001.

کاربرد در زمینه تست مواد مختلف نظری مواد صنعتی (Industrial chemicals)، دارویی (Pharmaceuticals)، مصرفی (Consumer products)، آرایشی (Cosmetics)، آلاینده‌های محیط کار (Workplace contaminants)، آلاینده‌های مخلوط‌آلاینده‌ها (Chemical mixtures) و آلاینده‌های محیطی (Environmental contaminants) را دارا می‌باشد(۸،۲۲). علاوه بر این در سمشناسی محیط و حرفة ای می‌توان از بیو مارکرها به عنوان وسیله‌ای برای پیشگیری، از طریق پایش بیولوژیکی مسیر میان تماس و ایجاد اثر استفاده نمود.

با وجودیکه تاکنون اطلاعات وسیعی از مطالعات حیوانی در مورد سمیت مواد شیمیایی حاصل شده است، اکثر این اطلاعات مربوط به تماس از راههای خوراکی یا پوستی بوده و اطلاعات مربوط به تماس از طریق استنشاقی بسیار اندک می‌باشد (۵). دلیل اصلی این محدودیت این است که بطور کلی مطالعات استنشاقی از نظر تکنیکی به مراتب پیچیده‌تر و پرهزینه‌تر می‌باشد. علی‌رغم این مشکلات، تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که روشهای سمشناسی اینویترو می‌توانند نقش بسیار مهمی در ارزیابی سمیت مواد شیمیایی هوابرد و آلاینده‌های هوا داشته باشند (۳۵-۳۹). به منظور شناسایی قابلیت روشهای اینویترو در این زمینه، روشهای ارتقا یافته برای ارزیابی سمیت آلاینده‌های هوا مورد بررسی قرار گرفته است. (۸،۲۲)

نتیجه گیری

تماس با تعداد فرازینه مواد و آلاینده‌های شیمیایی در محیط‌های کار و محیط‌های آزاد یکی از عوامل مهم در به خطر افتادن سلامتی افراد بوده و می‌تواند طیف وسیعی از مشکلات تنفسی، ناراحتیهای پوستی و بیماریهای سیستمیک را ایجاد نماید. در حالیکه ارزیابی سمیت مواد شیمیایی مستلزم داشتن اطلاعات سمشناسی می‌باشد، در بسیاری از موارد، خصوصاً در مورد مواد شیمیایی صنعتی، دسترسی به این اطلاعات بسیار محدود می‌باشد (۶،۴). علاوه بر این، امروزه گذشته از دلایل اخلاقی و اقتصادی استفاده بیش از حد از اطلاعات حیوانی در سمشناسی مورد انتقاد مجتمع علمی قرار گرفته است. ضرورت تعیین پتانسیل اثرات سمی تعداد بیشمار مواد شیمیایی نیاز به ارتقا روشهای نوین سمشناسی را پیش از پیش مشخص می‌نماید.



23. Zucco, F., De Angelis, I., Testai, E., Stammati, A., Toxicology investigations with cell culture systems: 20 years after. *Toxicology In Vitro* 18: 153-163. 2004.
24. Wilson, A.P., Cytotoxicity and viability assays. In: *Animal Cell Culture*, third edition. Masters, J.R.W., editor. Oxford University Press, NY, pp 175-219. 2000.
25. Frazier, J.M. *In Vitro Toxicity Testing Applications to Safety Evaluation*. Marcel Dekker, Inc, New York.1992.
26. Ames, B.N., Durston, W.E., Yamasaki, E., Lee, F.D. Carcinogens are mutagens. Simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 70: 2281-2285. 1973.
27. Ames, B.N., McCann, J., Yamasaki, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test*. *Mutation Research* 31: 347-363. 1975.
28. O'Hare, S., Atterwill, C.K. 1995. *Methods in Molecular Biology: In vitro Toxicity Testing Protocols*. Humana Press, New Jersey.
29. Bakand, S., Hayes, A.J., Winder, C., Khalil, C. Markovic, B. *In vitro cytotoxicity testing of airborne formaldehyde collected in serum free culture media*. *Toxi Indus Health*, 21: 7-8, 147-154. 2005.
30. Bakand, S. Winder, C., Khalil, C. and Hayes, A. A novel in vitro exposure technique for toxicity assessment of volatile organic compounds. *Journal of Environmental Monitoring*, 8: 1, 100-105. 2006.
31. Bakand, S., Winder, C. Khalil, C. and Hayes, A. An experimental in vitro model for dynamic direct exposure of human cells to airborne contaminants. *Toxicology Letters*, 165: 1, 1-10. 2006.
32. Bakand, S., Hayes, A. and Winder, C. Comparative in vitro cytotoxicity assessment in human alveolar epithelial cells. *Toxicology In Vitro*, 21: 7, 1341-1347. 2007.
33. Bakand, S., Hayes, A. and Winder, C. An integrated in vitro approach for toxicity testing of airborne contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 70:1604-1612, 2007.
34. Bakand, S., Hayes, A. and Winder, C. A new approach for testing airborne pollutants. *Environmental Health Perspectives*. 115: 3, A149-151. 2007.
35. Aufderheide, M., Knebel, J.W., Ritter, D. Novel approaches for studying pulmonary toxicity in vitro. *Toxicology Letters* 140-141: 205-211, 2003
22. Hayes, A., Bakand, S. and Winder, C.. Novel in vitro exposure techniques for toxicity testing and biomonitoring of airborne contaminants. In: *Drug Testing In Vitro-Breakthroughs and Trends in Cell Culture Technology*, Marx, U. and Sandig, V. (Eds). Wiley-VCH, Berlin, Part 1: Emerging in vitro culture technologies, Chapter 4, 103-124. 2007.
10. Greenberg, M. I. and Phillips, S. D., A brief history of Occupational, Industrial and Environmental Toxicology. In: *Occupational, Industrial and Environmental Toxicology*. 2ed. Greenberg, M. I., Hamilton, R. J. and Phillips, S. D. (Eds).. Philadelphia, Pennsylvania, Mosby, Inc. 2003. pp. 2-5
11. Barile, F.A. *Introduction to in vitro Cytotoxicity, Mechanisms and Methods*. CRC Press, Boca Raton. 1994.
12. Faustman, E.M., Omenn, G.S. Risk Assessment. In: Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons, sixth edition. Klaassen, C.D., editor. McGraw-Hill, New York, pp 83-104.
13. Trevan, J.W. Error of determination of toxicity. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 101: 483-514. 1927.
14. OECD. *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing*. Organisation for Economic and Cooperative Development, Paris. 2001.
15. UN, Globally harmonized system of classification and labeling of chemicals (GHS). New York, United Nations. 2003.
16. Eisenbrand, G., Pool-Zobel, B. P., Baker, V., Balls, M., Blauboer, B. J., Boobis, A., Carere, A., Kevekordes, S., Lhuquenot, J. C., Pieters, R. and Kleiner, J., 2002. Methods of in vitro toxicology. *Food Chem. Toxicol.*, 40:2-3, 193-236. 2003.
17. Silbergeld, E. K. Toxicology. In: *Encyclopaedia of occupational health and safety*. Fourth edition. Stellman, J. M. (Ed). Geneva, International labour office. 1998. pp. 33.1-33.74.
18. Gad, S. C. *In Vitro Toxicology*. New York, Taylor and Francis. 2000.
19. Russell, V. M. S. and Burch, R. L. *The Principles of Humane Experimental Techniques*. Methuen & Co. Ltd, London. 1959.
20. Marchant, G. E., Genetics and the future of environmental policy. In: *Environmentalism and the Technologies of Tomorrow, Shaping the Next Industrial Revolution*. Olson, R. and Rejeski, D. (Eds). Island Press, Washington, pp. 61-70. 2005.
21. Ekwall, B. Screening of toxic compounds in mammalian cell cultures. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 407:1, 64-77. 1983.