

**АЛГОРИТМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ
ТОКСИЧЕСКОЙ КОМЫ У КРЫС**

Бонитенко Е.Ю., Головкин А.И., Башарин В.А., Иванов М.Б., Петров А.Н., Макарова Н.В. *

ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России,

**ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова»*

МЧС России, Санкт-Петербург

192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1, тел. 8(812)365-06-80

e-mail: basharin1@yandex.ru

Резюме

Представлен алгоритм создания экспериментальных моделей токсической комы при отравлениях депримирующими агентами с различными механизмами токсического действия. С использованием математического аппарата разработаны критерии оценки тяжести угнетения неврологических функций и степени глубины комы, созданы математические модели, позволяющие прогнозировать исход острого отравления этанолом, 1,4-бутандиолом, тиопенталом натрия и оксибутиратом натрия. Установлено, что не для всех соединений, обладающих депримирующим действием у человека, могут быть созданы модели токсической комы в эксперименте.

Ключевые слова: токсическая кома, экспериментальная модель, интоксикация

**ALGORITHM OF EXPERIMENTAL MODELLING
OF THE TOXIC COMA AT RATS**

Bonitenko E.Yu., Golovko A.I., Basharin V.A., Ivanov M.B., Petrov A.H., Makarova N.V.

Federal State Scientific Institution «Institute of Toxicology» Federal Medico-Biological Agency, St. Petersburg, Russia

Resume

The algorithm of experimental models creation of coma at depressive agents intoxications with the different mechanisms of toxic action is represented. Assessment criteria of the neurological functions oppression severity, the degree of coma depth and outcome prediction of acute poisoning with ethanol, 1,4-butanediol, sodium thiopental and sodium oxybutyrate are developed. Model of toxic coma can be created for certain substances in the experiment.

Key words: toxic coma, experimental model, intoxication

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы проблема острых отравлений депримирующими веществами не только не утратила своего значение, но, напротив, представляется все более актуальной. Так, в среднем по России количество отравлений депримирующими веществами составляет от 62,4% до 69,2% среди всех причин интоксикаций [3]. Наиболее тяжелой степенью депримации при отравлениях является токсическая кома.

В отличие от исследований патогенеза других заболеваний, широко использующих экспериментальные модели на животных, большинство работ по комам выполнено на основании данных клинических наблюдений [8]. Хотя значение подобных экспериментальных моделей, например, при проведении скрининговых исследований по поиску новых эффективных средств коррекции отравлений депримирующими агентами на доклиническом этапе, очевидно. В небольшом же количестве экспериментальных работ кома у животных изучалась как «терминальный статус», развившийся в результате патологических изменений функций мозга [5]. При этом, как правило, при изучении химической патологии, авторами для создания экспериментальной комы использовались конкретные токсиканты и не изучалась возможность моделирования всего спектра форм угнетения функций центральной нервной системы (от оглушения до терминальной комы); не уделялось должного внимания созданию общих подходов к моделированию депримирующих эффектов на животных при действии факторов химической природы.

Для практических целей в экспериментальных исследованиях чаще всего требуется моделирование не всего спектра патологических состояний, а лишь тяжёлых форм угнетения ЦНС. Попытки выявления критериев степени угнетения функций ЦНС для животных предпринимались исследователями неоднократно. Так, для оценки тяжести острых отравлений этанолом кома описывается следующими клиническими проявлениями: боковое положение, обездвиженность, отсутствие активных движений, расслабление мышц, прерывистое дыхание, практически отсутствие реакций на болевые, тактильные и звуковые раздражения [6].

В.Л. Рейнюк (2008) эквивалентом комы у животных считал отсутствие всех рефлексов, исключая роговичный. Состояние сопора констатировали при утрате ортостатического рефлекса (переход в боковое положение) и аудио-моторного рефлекса с одновременным сохранением локализованной защитной реакции на болевые стимулы [4]. Этот простой в использовании подход, к сожалению, имеет целый ряд ограничений, в том

числе отсутствие градации выраженности комы, и не учитывает особенности изменений неврологических показателей при отравлениях различными химическими веществами.

Для оценки степени выраженности коматозного состояния у экспериментальных животных при моделировании поражений печени определяли три уровня нарушений – от простых нарушений движений до глубокого сна с отсутствием болевых реакций [9]. Подобное разделение коматозных состояний, развивающихся у животных, достаточно условно и поверхностно.

Интересный подход для оценки неврологического состояния животных представлен в работе Singlin (2002). Автор предлагает разделение состояний, формирующихся у животных на фоне общей анестезии, на четыре группы в зависимости от глубины нарушения сознания, отсутствия или наличия рефлексов, степени угнетения ЦНС и физиологических показателей. Подробно описав в целом картину, характерную для действия анестетиков, автор не претендует на создание модели депримирующего действия химических агентов [10]. Подводя итог своим наблюдениям, Singlin (2002) подчеркивает, что изменения неврологических и вегетативных показателей могут существенно различаться в зависимости от вида животных и особенностей токсиканта. Результаты данной работы не позволяют точно идентифицировать токсическую кому, не опираются на математический аппарат, позволяющий оценить значимость показателей для выявления степени депримации при действии токсикантов.

Таким образом, до настоящего времени подходы к диагностике глубины депримирующих эффектов у экспериментальных животных разработаны недостаточно, а критерии носят преимущественно описательный характер и не имеют четкого математического обоснования.

Целью настоящей работы стала разработка алгоритма создания моделей токсических ком при острых отравлениях веществами депримирующего действия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования выполнены на 700 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г разводки питомника Рапполово АМН РФ. Животных содержали в стандартных условиях вивария. За сутки до начала исследования кормление животных прекращали.

В работе были использованы депримирующие агенты с различными механизмами токсического действия (табл. 1).

При оценке состояния животных неврологические показатели были разделены по степени тяжести и выражены в баллах:

1. Поведение животных (ПЖ): комплексная оценка поведения животного при нахождении крысы в клетке и взятии на руки. Взятие на руки и помещение животного на поверхность клетки позволяло исключить состояние сна. Выбор этого показателя в качестве интегрального обусловлен тем, что позные и двигательные реакции регулируются головным мозгом как единым целым. Выявление двигательной активности – один из наиболее часто используемых и важных показателей оценки изменений функций ЦНС. Поведение животных: активная деятельность (груминг, принятие пищи и др.), сон, при взятии на руки активные целенаправленные реакции – 4 балла; лежит, при взятии на руки движения замедленные, но сохраняется их целенаправленность к избеганию, поворачивает голову – 3 балла; лежит на животе или в боковом положении, при взятии на руки движения нецеленаправленные – 2 балла; лежит на животе или боковом положении, при взятии на руки движения отсутствуют – 1 балл.

Таблица 1

Характеристика используемых в исследовании токсикантов

Группа токсикантов	Представители	Путь введения	ЛД ₅₀ для крыс, г/кг
Неэлектролиты	Спирты	этанол	5,2 ± 0,2
		этиленгликоль	6,9 ± 0,6
		1,4-бутандиол	1,2 ± 0,04
	Хлорированные углеводороды	дихлорэтан	5,0 ± 0,25
		трихлорэтилен	4,0 ± 0,1
Медикаментозные яды	Производные барбитуровой кислоты	тиопентал натрия	0,085 ± 0,002
	ГАМК-миметики	оксибутират натрия	2,75 ± 0,1
	ГАМК-литики	1,1-диметил-гидразин	0,11 ± 0,005
	Опиаты	морфин	0,3 ± 0,06
		фентанил	0,005*
	Нейролептики	аминазин	**
		азалептин	0,25 ± 0,007
		дроперидол	**
		феназепам	**
	Бензодиазепины	диазепам	**
		карбофос	0,750 ± 0,009

	Холинолитики	атропин	в/б	0,250 ± 0,014
Вещества действия	общееядовитого	нитрит натрия	в/б	0,070 ± 0,002
		нитробензол	в/б	0,40 ± 0,06
Примечания: * – среднесмертельные дозы для веществ по данным литературы; ** – введение максимально разрешенного объема раствора фармакопейного препарата (5 мл) не позволяло определить ЛД ₅₀ ; в/б – внутрибрюшинно; в/ж – внутривенно.				

2. Реакция на обонятельный (пищевой) раздражитель (РО). Реакция активная с движением, точная ориентация к стимулу – 3 балла; ослабленная реакция поворотом головы с движением по направлению к стимулу – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

3. Аудиомоторная реакция (реакция вздрагивания в ответ на звуковой раздражитель) (АР). Крысу помещали на открытую площадку, затем подавали сильный звуковой раздражитель (громкий хлопок руками). Аудиомоторная реакция: выражена (проявляется реакцией избегания, вытягиванием задних конечностей, сгибанием передних конечностей, выгибанием спины) – 3 балла; ослаблена (отмечается сокращение круговой мышцы глаза) – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

4. Поисковая реакция на открытом пространстве (ПР). Поведение, ориентированное к физическому окружению, особенно выражено у грызунов на новой для них территории (животные исследуют ее). Включает локомоцию с принюхиванием, подъемы на задние лапы с принюхиванием, заглядывание в различные отверстия, т.е. элементы изучения окружающей среды. Это поведение носит в новой среде обязательный характер. Поисковая реакция: активная деятельность (обнюхивание, двигательная активность) – 3 балла; сидит, поисковая реакция не выражена – 2 балла; поисковая реакция отсутствует, лежит на животе или боковое положение – 1 балл.

5. Рефлекс хватания за решетку (РХР). Крысу сажают на решетку от клетки и пытаются с неё снять. Выполнение данного рефлекса связано с деятельностью коры головного мозга. Рефлекс хватания за решетку: выражен (при поднятии крысы сила держания возрастает) – 3 балла; снижен – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

6. Рефлекс переворачивания (РП). Животное кладут на спину на плоскую поверхность, оно сразу же переворачивается (становится на четыре лапы). При выраженном угнетении коры головного мозга животное не переворачивается и отсутствуют попытки к переворачиванию. Рефлекс переворачивания: сохранен – 4 балла; замедлен – 3 балла; отсутствует при сохраненных попытках – 2 балла; отсутствует – 1.

7. Тонус мышц (ТМ) исследуется при взятии животного в руки. Тонус мышц нормальный (упругий тонус брюшной стенки, тонус конечностей умеренный) – 3 балла; дистонус (снижен или повышен) – 2 балла; атония – 1 балл.

8. Тестирование равновесия на наклонной поверхности (ТРНП). Животное помещают вниз головой на платформу, сделанную из металлических ячеек и наклоненную под углом 30°. Крыса быстро поворачивается мордочкой к верхней части платформы или обследует платформу – 4 балла; замедленно переворачивается, сидит или лежит, отдельные целенаправленные движения – 3 балла; отсутствует переворачивание, могут быть некоординированные движения – 2 балла; отсутствуют движения, боковое положение – 1 балл.

9. Тестирование равновесия на горизонтальном стержне (ТГС). Животное помещают на горизонтальный деревянный брусок диаметром 2 см и длиной 30 см, закрепленный на высоте 50 см над полом. Крыса сидит более 30 с – 3 балла; животное неуклюже выполняет данный тест и быстро падает (менее 30 с) – 2 балла; не выполняет тест (падает), не удается посадить на стержень – 1 балл.

10. Нарушение координации (атаксия): отсутствует – 3 балла; отмечается атаксия – 2 балла; невозможно проверить (отсутствие движений, боковое положение) – 1 балл.

11. Проба на нашатырный спирт: выраженная реакция на раздражитель избеганием – 3 балла; ослабленная реакция, сохранен чихательный рефлекс – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

12. Оценка тактильно-болевого чувствительности (БР). Болевой раздражитель наносили сжатием хвоста пинцетом. В норме животное локализует источники боли, происходит резкое поворачивание животного в сторону болевого стимула или реакция избегания. По мере угнетения деятельности ЦНС снижается болевая чувствительность, приводя к нелокализованному ответу на болевое воздействие сокращением брюшной стенки или полным отсутствием реакции. Крыса реагирует на одиночное воздействие, агрессией или избеганием – 4 балла; слабая реакция отползанием или поворотом – 3 балла; нелокализованный ответ, в том числе сокращением брюшной стенки – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

13. Рефлекс сгибания задних конечностей (РС). После сжатия пальцев задних конечностей ступня немедленно отдергивается и сгибание ненадолго сохраняется. Интенсивность реакции пропорциональна интенсивности стимула. При значительном угнетении нервной системы раздражение приводит к нелокализованному ответу сокращением брюшной стенки, а при дальнейшем угнетении – отсутствием реакции на раздражитель. Уровень нервной системы, на котором выполняется данная реакция – спинной

мозг. Рефлекс сгибания задних конечностей: быстрое сгибание ступни, которое ненадолго сохраняется – 4 балла; замедленное сгибание ступни, которое длительно сохраняется – 3 балла; отсутствие сгибания ступни после одиночного стимула, нелокализованный ответ сокращением брюшной стенки – 2 балла; отсутствует сгибание даже после многократного стимула – 1 балл.

14. Состояние зрачка (СЗ) и их размер (РЗ). При рассеянном освещении размер зрачка у животных составляет около 2 мм. Состояние зрачков: норма – 2 балла; миоз или мидриаз – 1 балл.

15. Зрачковый рефлекс (ЗР). После освещения глаза животного можно наблюдать миотическую реакцию. Рефлекторная дуга данного рефлекса замыкается на уровне Варолиева моста и среднего мозга. В норме после усиления яркости света происходит быстрое сокращение зрачка, после уменьшения уровня интенсивности освещения зрачок опять расширяется. Зрачковый рефлекс (реакция зрачков на свет): выраженный – 3 балла; ослаблен – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

16. Мидриаз и отсутствие зрачкового рефлекса (МОР): сочетание мидриаза и отсутствие реакции зрачка не выявляется – 2 балла; зрачок расширен и на свет не реагирует – 1 балл.

17. Корнеальный рефлекс (КР). Животное фиксируют одной рукой и осторожно прикасаются к роговице волоском. Крыса быстро закрывает веки, и они остаются закрытыми на некоторое время. Данный рефлекс замыкается на уровне продолговатого мозга. При угнетении нервной системы выраженность данного рефлекса снижается. Корнеальный рефлекс (КР): выражен – 3 балла; ослаблен – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

18. Глоточный рефлекс (ГР). Животное фиксируют одной рукой и осторожно зондом проверяют глоточный рефлекс. У животного наблюдаются глотательные движения. Рефлекс выражен – 3 балла; ослаблен – 2 балла; отсутствует – 1 балл.

19. Судорожная активность (СА): судороги отсутствуют – 4 балла; локальные судороги или миоклонии – 3 балла; генерализованные судороги – 2 балла; опистотонус – 1 балл.

20. Двигательное возбуждение: отсутствует – 2 балла, имеется (хаотичное передвижение по клетке) – 1 балл.

Помимо неврологических показателей у животных оценивались витальные функции: частота дыханий, частота сердечных сокращений, ректальная температура и суммационно-пороговый потенциал (СПП). Запись ЭКГ производили на приборе «Поли-Спектр-8В» (Россия). Обработку полученных результатов производили в программе «Поли-Спектр». Ректальную температуру измеряли с помощью прибора ТПЭМ (Россия). Подсчет частоты

дыхательных движений (ЧД) производили визуальным методом, выражали количеством движений в мин.

У крыс дополнительно оценивали характер и ритм дыхания, выражали его в баллах: ритмичное, 60-150 дыхательных движений в минуту – 4 балла; брадипноэ (менее 60 дыханий в мин) или тахипноэ – 3 балла; брадипноэ с участием вспомогательных мышц, ЧД до 40 в мин – 2 балла; патологическое дыхание, длительные промежутки апноэ, ЧД менее 20 – 1 балл. В качестве критерия для обозначения брадипноэ была выбрана величина 60 дыханий в минуту и ниже – это связано с тем, что у интактных животных ЧД колеблется в широком диапазоне и вероятное минимальное значение этого показателя может составлять около 60 дыхательных движений в мин.

Для дальнейшей статистической обработки с целью математического обоснования значимости оцениваемых показателей неврологического тестирования и витальных функций животным выставлялась экспертная оценка тяжести угнетения функционирования ЦНС: 1) физиологическая норма, 2) оглушение, 3) сопор, 4) кома умеренная, 5) кома глубокая, 6) кома запредельная. В целом подобная градация соответствует состояниям, выделяемым в клинике у человека. Разделение оглушения на умеренную и глубокую степень в эксперименте на лабораторных животных невозможно.

Для состояния, которое оценивалось как «оглушение», было характерно: снижение двигательной активности, положение животного на животе или на боку, снижение поисковой реакции при переносе из клетки на открытую поверхность, сохранение или замедление рефлекса переворачивания, атаксия, координированная защитная реакция на боль, выраженный рефлекс сгибания конечности. Животное точно локализовало место раздражения, реакция на пищевой раздражитель была снижена, а аудиомоторная реакция сохранена.

При «сопоре» – животное лежало в клетке, при взятии на руки были возможны нецеленаправленные движения, в основном отмечалась гипотония мышц (наличие гипертонуса или гипотонии связана с особенностями действия токсиканта), при нанесении болевых раздражений возникали направленные на их устранение координированные защитные движения с поворотом туловища в сторону раздражения, аудиомоторная реакция в основном сохранена, выявлялись корнеальные, глоточные и зрачковые рефлексы. В случае развития у животных миоза выявление зрачкового рефлекса было затруднено.

Кома обычно оценивается по трехстепенной шкале. Подобное деление было выбрано и для оценки комы в эксперименте.

Для «поверхностной комы» было характерно боковое положение животного или положение на животе, отсутствие двигательной активности при взятии на руки, снижение тонуса мышц (атония) и болевой реакции на сжатие лапы или хвоста, сохранение корнеального рефлекса и снижение плоточного рефлекса. Отмечалось урежение частоты дыхательных движений.

«Глубокая кома» характеризовалась отсутствием роговичного рефлекса, болевой чувствительности и рефлекса сгибания конечностей, снижением или отсутствием плоточного рефлекса, выраженным уменьшением частоты дыхательных движений и частоты сердечных сокращений.

Проявлениями «терминальной (запредельной) комы» были – отсутствие всех исследуемых рефлексов, возможно развитие мидриаза, замедление или отсутствие реакции зрачков на свет, резко выраженные нарушения витальных функций (расстройства ритма и частоты дыхания или апноэ, патологическое дыхание, снижение частоты сердечных сокращений и аритмии).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы STATISTICA (data analysis software system), version 6 StatSoft, Inc []. Первый этап статистической обработки состоял в вычислении описательных статистик для непрерывных показателей и частотных таблиц для дискретных показателей. Для анализа связей дискретных показателей вычислялись 2-х и 3-х входные таблицы сопряженности, однородность таблиц оценивалась с помощью критерия χ^2 Пирсона и χ^2 максимального правдоподобия. Были вычислены ранговые корреляции γ (гамма). Уровень значимости выбран равным 0,05 для всех статистических критериев.

Для сравнения показателей (средних значений или распределений) в группах использовались критерий Манна-Уитни, двухвыборочный критерий Стьюдента, а также точный критерий Фишера. Для оценки динамики различных показателей применялся ранговый дисперсионный анализ и конкордация Кендалла.

Пошаговый регрессионный анализ использовался для выбора переменных и построения решающих правил – приближения экспертной оценки линейными комбинациями показателей тестов и вегетативных показателей на каждом сроке оценки и по всем срокам в целом. Применялись алгоритмы пошагового включения и пошагового исключения для выбора оптимальных решений. Критерием оптимальности выбран минимум допущенных ошибок. Для построения решающих правил использовалось построение бинарных деревьев классификации – ветвлению по группирующей переменной с использованием предикторных переменных порядкового типа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов и математической обработки, полученных данных был разработан алгоритм (рис. 1), позволяющий моделировать депримирующие эффекты.

В соответствии с представленным алгоритмом на первом этапе исследования определяли среднелетальную дозу и описывали клинические проявления интоксикации. Полученные данные использовали для выбора веществ, которые в эксперименте способны вызывать весь спектр состояний, сопровождающихся угнетением функций ЦНС от «оглушения» до «комы». При этом, если в предварительных экспериментах модельное вещество в среднелетальной дозе вызывало у животных токсическую кому, то в дальнейшем клиника отравления исследовалась в диапазоне доз от 0,5 до 1,5 ЛД₅₀.

На следующем этапе в динамике необходимо проводили комплексное неврологическое обследование животных с регистрацией показателей витальных функций на основании которого выставляли экспертную оценку тяжести угнетения функционирования ЦНС. Для математического обоснования значимости оцениваемых показателей проводилась их статистическая обработка.

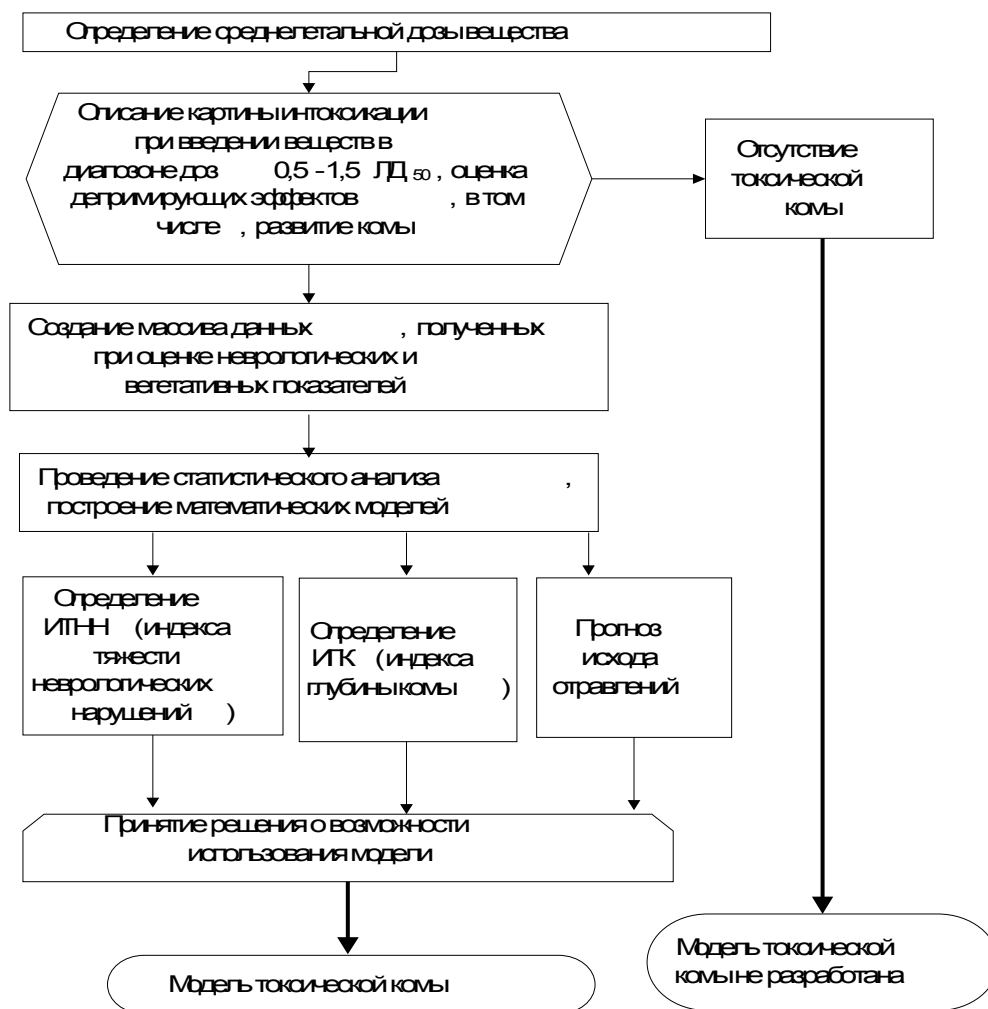


Рисунок 1. Алгоритм моделирования токсических ком в эксперименте

Полученные результаты применяли для создания решающих правил (моделей), которые позволяют, используя неврологические и вегетативные показатели достаточно точно описать состояние отравленного экспериментального животного в любые сроки острого отравления. Способы получения решающих правил могут быть различными: дискриминантный анализ, регрессионный анализ, построение деревьев классификации и др. Соответственно, и вид решающих правил при этом получается различным.

В результате проведенного математического анализа разработаны модели, позволяющие оценить тяжесть неврологических нарушений, глубину комы и прогноз исхода интоксикации. При этом тяжесть неврологических нарушений описывается уравнениями, решение которых дает возможность исследователю рассчитать индекс тяжести неврологических нарушений (ИТНН), выраженный в баллах, и с высокой точностью оценить состояние животных. Дополнительная оценка состояния витальных функций у животных позволяет рассчитать индекс глубины комы (ИГК) для определения степени тяжести

угнетения ЦНС. Созданные адекватные математические модели позволяют прогнозировать исход отравления.

На основании проведенного исследования в соответствии с указанным алгоритмом установлено, что при введении животным целого ряда химических соединений не удается создать адекватную модель токсической комы. Агонисты опиоидных рецепторов (фентанил и морфин), хлорированные углеводороды (дихлорэтан и трихлорэтилен), фосфорорганическое соединение (карбофос) и атипичный нейролептик – азалептин, аминазин, дроперидол, нитрит натрия, нитробензол, 1,1-диметилгидразин не могут рассматриваться как самостоятельные средства для моделирования коматозных состояний.

Для создания экспериментальной модели токсической комы были выбраны: этанол, оксибутират натрия, 1,4-бутандиол и тиопентал натрия.

Таблица 2

Оценка тяжести неврологических нарушений при интоксикациях депримирующими агентами

Токсикант	Формула расчета ИТНН	Решение
Этанол	$\text{ИТНН} = 5 \cdot \text{ПЖ} + 4 \cdot \text{ГР} + 3 \cdot \text{БР} + 2 \cdot \text{РС} + 2 \cdot \text{ЗР} + \text{КР}$	ИТНН более 55 баллов – физиологическая норма; от 46 до 55 баллов – оглушение; от 36 до 45 баллов – сопор; от 26 до 35 баллов – кома умеренная; от 18 до 25 баллов – кома глубокая, терминальная кома – 17 баллов и меньше.
Оксибутират натрия	$\text{ИТНН} = 8 \cdot \text{МОР} + 4 \cdot \text{ПЖ} + 4 \cdot \text{ГР} + 3 \cdot \text{АР} + 2 \cdot \text{БР} + 2 \cdot \text{ПНС} + \text{КР} + \text{РС}$	ИТНН более 67 баллов – физиологическая норма; от 58 до 67 баллов – оглушение; от 50 до 57 баллов – сопор; от 41 до 49 баллов – кома умеренная; от 34 до 40 баллов – кома глубокая и 33 балла и менее – терминальная кома
1,4-бутандиол	$\text{ИТНН} = 5,5 \cdot \text{ГР} + 3 \cdot \text{БР} + 3 \cdot \text{ЗР} + 2 \cdot \text{РП} + 2 \cdot \text{КР} + 2 \cdot \text{ТМ} + 2 \cdot \text{ПР} + 1,5 \cdot \text{СЗ} + \text{ПНС}$	ИТНН более 65 баллов – физиологическая норма; от 56 до 65 баллов – оглушение; от 46 до 55 баллов – сопор; от 36 до 45 баллов – кома умеренная; от 26 до 35 баллов – кома глубокая и 25 баллов и менее – терминальная кома.
Тиопентал натрия	$\text{ИТНН} = 5 \cdot \text{ПЖ} + 3 \cdot \text{ТГС} + 2 \cdot \text{БР} + 3 \cdot \text{РС} + 3 \cdot \text{МОР} + 2 \cdot \text{КР} + \text{ГР}$	ИТНН более 57 баллов – физиологическая норма; от 47 до 57 баллов – оглушение; от 37 до 46 баллов – сопор; от 30 до 36 баллов – кома умеренная; от 25 до 29 баллов – кома глубокая и менее 25 баллов – терминальная кома.

Для расчета индекса тяжести неврологических нарушений (ИТНН) при действии депримирующих агентов были получены математические модели (табл. 2). Расчет данного показателя позволяет с достаточно высокой точностью (более 80% правильных ответов) описать состояние животных: от физиологической нормы до выраженного угнетения сознания – терминальной комы. Для каждой модели интоксикации были статистически обоснованы коэффициенты значимости признаков (неврологических показателей).

Токсическая кома сопровождается нарушением витальных функций, а они, как правило, и определяют исход острого отравления. Для оценки тяжести состояний в клинике у больных, находящихся в коме, используются шкалы, в которых учитываются не только неврологические показатели, но и степень нарушений жизненно важных функций. Этот подход был использован нами для создания математической модели расчета индекса глубины комы (ИГК). Уравнения для расчета ИГК при отравлениях этанолом, тиопенталом натрия и оксибутиратом натрия представлены в табл. 3.

Таблица 3

Балльная оценка степени тяжести состояния животных при интоксикациях депримирующими агентами

Токсикант	Формула расчета ИГК	Решение
Этанол	$\text{ИГК} = 5 \cdot \text{ПЖ} + 3,5 \cdot \text{ГР} + 2,5 \cdot \text{БР} + 3 \cdot \text{РС} - 1,5 \cdot \text{РЗ} + 2 \cdot \text{СЗ} - 3 \cdot \text{СА} + 0,03 \cdot \text{ЧД} + 0,01 \cdot \text{ЧСС}$	ИГК более 45 баллов – состояние в пределах физиологической нормы; от 37 до 45 баллов – оглушение; от 25 до 36 баллов – сонор; от 15 до 24 баллов – кома умеренная; от 4 до 14 баллов – кома глубокая; менее 3 баллов – запредельная кома.
Оксибутират натрия*	$\text{ИГК} = 8 \cdot \text{МОР} + 4 \cdot \text{ПЖ} + 4 \cdot \text{ГР} + 3 \cdot \text{АР} + 2 \cdot \text{БР} + 2 \cdot \text{ПНС} + \text{КР} + \text{РС}$	ИГК более 67 баллов – состояние в пределах физиологической нормы; от 58 до 67 баллов – оглушение; от 50 до 57 баллов – сонор; от 41 до 49 баллов – кома умеренная; от 34 до 40 баллов – кома глубокая и 33 и менее – терминальная кома
Тиопентал натрия	$\text{ИГК} = 5 \cdot \text{ПЖ} + 3 \cdot \text{ТГС} + 2 \cdot \text{БР} + 3 \cdot \text{РС} + 3 \cdot \text{МОР} + 2 \cdot \text{КР} + \text{ГР} + 2 \cdot \text{ХРД} + 0,01 \cdot \text{ЧСС}$	ИГК более 68 баллов – состояние функционирования нервной системы в пределах физиологической нормы; от 68 до 59 баллов – оглушение; от 58 до 48 баллов – сонор; от 47 до 38 баллов – кома умеренная; от 37 до 32 баллов – кома глубокая и менее 32 баллов – запредельная кома.
Примечание – * – При математическом моделировании с помощью пошаговой регрессии в решающее правило с расчетом ИГК показатели вегетативных функций не были включены, так как их включение в формулу не повышает точность оценки степени тяжести состояния.		

Для диагностики степени тяжести состояния экспериментальных животных при острой интоксикации 1,4-бутандиолом были использованы элементы алгоритма последовательного принятия решений или построения решающих правил с ветвлением. Для их применения требовалось учитывать данные о сроках оценки состояния – в обобщенном виде: срок оценки (0,5 и 1 час) или срок оценки (3, 6 или 8 часов).

При малых сроках оценки (0,5 и 1 ч): если значение определяющего показателя «Тактильно-болевая чувствительность» равно 1, используется решение:

$$\text{ИГК} = 6 \cdot \text{ЗР} + 4 \cdot \text{КР} - 3 \cdot \text{ПНС}.$$

При интерпретации значений, рассчитанных по формуле степени тяжести состояния нервной системы, используются следующие критерии: ИГК 22 балла и более – сопор; 21 и менее – умеренная кома. Результат применения данного решающего правила – 96,7% правильной классификации.

Если значение показателя «Тактильно-болевая чувствительность» равно 2 баллам, то используется решение:

$$\text{ИГК} = 30 + 3,7 \cdot \text{ЗР} + 4,7 \cdot \text{ТМ} - 0,07 \cdot \text{ЧСС}.$$

При интерпретации значений, рассчитанных по формуле степени тяжести состояния нервной системы, используются следующие критерии: ИГК 26 баллов и более баллов – оглушение; 18-25 баллов – сопор, 17 баллов и менее – умеренная кома. Результат применения данного решающего правила для части выборки, соответствующей срокам оценки 0,5 и 1 час и значению показателя «тактильно-болевая чувствительность», равному 2 баллам позволяет точно спрогнозировать состояние в 72,3%.

Если значение показателя «тактильно-болевая чувствительность» равно 3 или 4 баллам, используется решение:

$$\text{ИГК} = 5 \cdot \text{ПР} + 6,5 \cdot \text{БР} + 1,5 \cdot \text{ПНС} + 1,5 \cdot \text{ТМ} - 4 \cdot \text{РС}.$$

При интерпретации значений, рассчитанных по формуле степени тяжести состояния нервной системы, используются следующие критерии: ИГК 26 баллов и более баллов – состояние функционирования нервной системы в пределах физиологической нормы; 18-25 баллов – оглушение, 17 баллов и менее – сопор. Результат применения данного решающего правила – 90,4% правильной классификации состояния.

Если сроки исследования составляют 3, 6 или 8 ч, то для оценки тяжести состояния используют решающее правило:

$$\text{ИГК} = 5 \cdot \text{ГР} + 3,5 \cdot \text{РП} + 3 \cdot \text{БР} + 3 \cdot \text{ПНС} + 2,5 \cdot \text{ЗР} + 1,5 \cdot \text{АР} + 0,01 \cdot \text{ЧСС}.$$

При интерпретации значений, рассчитанных по формуле степени тяжести состояния нервной системы, используются следующие критерии: ИГК более 62 баллов – состояние функционирования нервной системы в пределах физиологической нормы; от 53 до 62 баллов – оглушение; от 44 до 52 баллов – сопор; от 33 до 43 баллов – кома умеренная; от 24 до 32 баллов – кома глубокая; 23 и менее – запредельная кома. Результат применения данного решающего правила составляет 85,4% правильной классификации.

На следующем этапе исследования для прогнозирования исхода острой интоксикации, вызванной депримирующими агентами в первые сутки отравления, с помощью статистического анализа данных неврологического тестирования и показателей вегетативных функций у животных были разработаны математические модели. Так, использование дискриминантного анализа позволило создать уравнения для прогноза исхода отравления этанолом (табл. 4).

Таблица 4

Прогноз исхода острого отравления этанолом у крыс

Время, ч	Групп-па*	Линейные дискриминантные функции	Точность прогноза,%
0,5	1	$F1 = 2,03 \cdot TM - 2,17 \cdot KP + 0,11 \cdot ЧСС - 16,84$	75,6
	2	$F2 = 0,58 \cdot TM - 0,70 \cdot KP + 0,12 \cdot ЧСС - 22,11$	
1	1	$F1 = 9,96 \cdot PЗ + 0,10 \cdot ЧД + 0,09 \cdot ЧСС - 30,68$	83,2
	2	$F2 = 8,66 \cdot PЗ + 0,11 \cdot ЧД + 0,11 \cdot ЧСС - 37,35$	
3	1	$F1 = 3,19 \cdot ГР + 0,09 \cdot ЧД - 7,29$	87,4
	2	$F2 = 6,69 \cdot + 0,12 \cdot ЧД - 17,00$	
6	1	$F1 = 4,49 \cdot \text{Температура} - 4,86 \cdot ГР - 58,43$	92,6
	2	$F2 = 4,97 \cdot \text{Температура} - 0,62 \cdot ГР - 80,75$	
8	1	$F1 = 3,19 \cdot KP - 0,73 \cdot AP - 0,04 \cdot ЧСС - 8,23$	93,4
	2	$F2 = 7,46 \cdot KP - 2,45 \cdot AP - 0,06 \cdot ЧСС - 23,05$	
Примечания: * – 1 группа – гибель животного, 2 группа – животное выживет в течение 1 суток. Температура в °С.			

При введении оксибутирата натрия исход отравления рассчитывался с использованием решающего правила:

$$F = 2 \cdot CЗ + 0,5 \cdot PC + 0,01 \cdot ЧСС - 0,1 \cdot СПП - 6,5.$$

Если $F > 0$ – то животное выживет, если $F < 0$ – то животное погибнет. Точность прогноза при использовании данного решающего правила составляет 86,2%.

С целью прогноза исхода острых отравлений тиопенталом натрия в эксперименте были использованы элементы алгоритма последовательного принятия решений (табл. 5).

Для прогноза исхода отравлений 1,4-бутандиолом в течение 1 сут интоксикации с использованием методов дискриминантного анализа было разработано следующее решающее правило:

$$F=3P + ПНС - СЗ + КР - 4.$$

Если $F>0$ – то животное выживет, если $F<0$ – то животное погибнет. Точность прогноза при использовании данного решающего правила составляет 76,9%.

Таблица 5

Прогноз исхода острого отравления крыс тиопенталом натрия

Неврологический показатель	Условие 100% выживаемости	Время исследования
Поведение животных	> 1 балла	1 сут
Реакция на обонятельный (пищевой) раздражитель	> 1 балла	1 сут
Аудиомоторная реакция	> 1 балла	через 0,5 ч
Поисковая реакция	> 1 балла	1 сут
Рефлекс хватания за решетку	> 1 балла	1 сут
Рефлекс переворачивания	> 1 балла	1 сут
Тонус мышц	> 1 балла	через 0,5 ч
Тестирование равновесия на наклонной поверхности	> 1 балла	1 сут
Тестирование равновесия на горизонтальном стержне (без вращения)	> 1 балла	1 сут
Нарушение координации (атаксия)	> 1 балла	1 сут
Проба на нашатырный спирт	> 2 баллов	1 сут
Тактильно-болевая чувствительность	> 2 баллов	1 сут
Рефлекс сгибания задних конечностей	> 3 баллов	через 0,5 ч
Глоточный рефлекс	> 1 балла	через 1 ч
Характер и ритм дыхания	> 4 баллов	через 1 ч
ЧД, в мин	> 50	через 1 ч
Температура, °С	> 32	через 1 ч
ЧСС, в мин	> 350	от 1 до 3 ч
	> 290	через 3 ч

Таким образом, в результате проведенного исследования разработан алгоритм моделирования депримирующих эффектов на лабораторных животных, который может быть использован для создания экспериментальных моделей токсических ком с целью стандартизации исследований в межлабораторной практике.

ВЫВОДЫ

1. На основании разработанного алгоритма оценки депримирующего действия химических веществ с учетом неврологических и вегетативных показателей созданы и математически обоснованы шкалы оценки степени угнетения функций ЦНС и тяжести состояния экспериментальных животных при острых отравлениях. Установлено, что не все соединения, вызывающие развитие токсической комы в клинической практике, могут быть использованы для создания моделей подобных состояний в экспериментах на грызунах.

2. Разработаны и апробированы математические модели, позволяющие оценить депримирующие эффекты при отравлениях этанолом, тиопенталом натрия, 1,4-бутандиолом и оксибутиратом натрия в экспериментальных исследованиях на крысах. Для оценки выраженности угнетения функций нервной системы и глубины комы предложены интегральные показатели: индекс тяжести неврологических нарушений и индекс глубины комы.

3. Созданы модели, позволяющие на основании оценки неврологического статуса и показателей витальных функций в первые сутки прогнозировать исход острого отравления этанолом, тиопенталом натрия, 1,4-бутандиолом и оксибутиратом натрия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гайдышев И. Анализ и обработка данных. Специальный справочник. – СПб.: «Питер», 2001. – 751 с.
2. Красовский Г.Н. Рахманин Ю.А., Егоров Н.А. Экстраполяция токсикологических данных с животных на человека. – М.: Медицина, 2009. – 208 с.
3. Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Рожков П.Г. и др. Современное состояние эпидемиологии острых химических отравлений и токсикологической помощи населению // Токсикологический вестник. – 2010. – № 3. – С. 34-37.
4. Рейнюк В.Л. Кинетика эндогенного аммиака при отравлениях веществами седативно-гипнотического действия; роль ее нарушений в формировании летального исхода : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб, 2008. – 41с.
5. Стрекалова О.С. Учайкин В.Ф., Ипатова О.М. и др. Коматозные состояния: этиопатогенез, экспериментальные исследования, лечение гепатической комы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т.55, Вып.4. – С. 380-396.
6. Шелыгин К.В., Кирпич И.А., Леонтьев В.Я.. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. Методические рекомендации [Электронный

ресурс]. – Архангельск, 2002. – Режим доступа: <http://www.psychoshell.narod.ru>, свободный

7. Russo H., Bres J., Duboin M-P., Roquefeuil B. Pharmacokinetics of thiopental after single and multiple intravenous doses in critical care patients // Eur J Clin Pharmacol. – 1995. – Vol.49, №1-2. – P. 127-137.
8. Heard K., Bebarta V.S. Reliability of the Glasgow coma scale for the emergency department evaluation of poisoned patients // Hum. Exp. Toxicol. – 2004. – Vol.23, №4. – P. 197-200.
9. Ryan C.J. Multisorbent plasma perfusion in fulminant hepatic failure: effects of duration and frequency of treatment in rats with grade III hepatic coma // Artif. Organs. – 2001. – Vol.25, №2. – P. 109-118.
10. Siglin J.C., Baker W.H. Laboratory animal management / Handbook of toxicology / ed. M.G. Derelanko, M.A. Holinger. – USA: CRC Press LLS, 2002. – P.12-79.