

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ И МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ НОРМИРОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Мулик А.Б., Шатыр Ю.А., Постнова М.В.

ФГАОУ ВПО «Волгоградский государственный университет»

400062 г. Волгоград, проспект Университетский, 100

Тел. (8442) 46-16-39; e-mail: mulikab@mail.ru

Резюме: Теоретически обоснована целесообразность персонализации нормирования токсических нагрузок на организм человека. Представлен системный подход к возможности в реальных условиях экспериментальной и практической деятельности количественно оценивать и качественно типологизировать функциональный статус человека и лабораторных животных посредством уровня общей неспецифической реактивности организма. Охарактеризованы эффекты проявления стандартных токсических нагрузок у биопробных животных с различным уровнем общей неспецифической реактивности.

Ключевые слова: нормирование токсических нагрузок, токсический эффект, биопробные животные, стандартизация биомоделей, уровень общей неспецифической реактивности организма.

DEVELOPMENT AND METHODOLOGICAL APPROACHES TO PERSONALIZATION VALUATION TOXIC LOAD ON THE BODY

Mulik A.B., Shatyr Y.A., Postnova M.V.

Volgograd State University, 400062 Volgograd, Prospect University, 100

Tel. (8442) 46-16-39; e-mail: mulikab@mail.ru

Abstract: Theoretically, the expediency of personalization valuation toxic load on the body. Provides a systematic approach to the opportunities in the real experimental and practical activities to quantify and qualitatively typologize functional status of human and laboratory animals by the level of general non-specific reactivity. Characterized the effects of toxic manifestations of standard loads in experimental animals with different levels of general non-specific reactivity.

Key words: valuation of toxic loads, toxicity, experimental animals, standardization of experimental animals, the level of total non-specific reactivity.

Введение

В последние годы предпринимаются активные действия по внедрению методов *in vitro* для оценки токсического эффекта различных химических веществ. Это обусловлено, прежде всего, этическими соображениями, желанием минимизировать страдания лабораторных животных. Кроме того, по причине существенных различий в анатомии, физиологии и метаболизме различных видов животных и человека, получаемые результаты в эксперименте на биопробных животных не всегда в полном соответствии можно экстраполировать на человека. Современное развитие химии, физики, биоинформатики и микробиологии позволило достичь значительных успехов как в разработке методов биотестирования на культурах клеток человека и животных [1], так и в применении математического моделирования на различных этапах оценки токсического эффекта [2]. Вместе с тем, широкому внедрению методов *in vitro* препятствует ряд объективных факторов. Имеются определенные сложности в стандартизации используемых в тест-системах *in vitro* органов, срезов, клеточных культур [3]. Следует признать, что ни одна модель *in vitro* не может воспроизвести всё многообразие сложных биологических систем, функционирующих на организменном уровне. Данный факт тем более актуален, когда речь идет о нормировании качества окружающей среды, выявлении порогов вредного воздействия химических веществ на организм человека, что объясняет необходимость использования методов *in vivo* [4].

Современная система гигиенического нормирования качества окружающей среды, в том числе в отношении персонала, базируется на положении о предельно допустимых концентрациях (ПДК). ПДК – такая концентрация загрязняющих веществ в единице объема среды, которая не оказывает на человека прямого или косвенного вредного и неприятного действия, не снижает его работоспособности и не влияет на самочувствие. Основопологающим принципом гигиенического нормирования является принцип пороговости, основанный на том, что живой организм до определенного предела (порога) способен приспосабливаться к воздействию вредных факторов среды. Наименьшая доза вещества, при воздействии которой в организме возникают изменения, выходящие за пределы его нормального состояния, является минимальной действующей дозой (МДД) и соответственно обуславливает потенциальный риск для здоровья человека.

Процедура нормирования порогов вредного воздействия нового химического вещества предполагает определение основных параметров его токсичности. Степень токсичности характеризуется величиной токсической дозы, которая вызывает

определенный токсический эффект. Токсикометрия выполняется на различных видах лабораторных животных, предварительно стандартизированных по возрасту, живой массе, полу, микробиологическому и генетическому статусу. При этом, подбор животных в опытные и контрольные группы как для острых, так и для хронических экспериментов осуществляется без учета индивидуальных физиологических особенностей организма. Данные условия не позволяют гарантировать определение абсолютной величины МДД и, соответственно порога вредного воздействия для всех представителей используемого вида животных. Последующие исследования на людях-добровольцах дополнительно усугубляются целым рядом ограничений, снижающих уровень репрезентативности выборочной совокупности наблюдаемых.

Представленные обстоятельства вызывают целый ряд вопросов проблемного характера, связанных с экстраполяцией экспериментальных данных с животных на человека. Во-первых, использование ограниченной выборки биопробных животных не может отражать в целом весь спектр видовых характеристик их чувствительности к конкретному веществу. Во-вторых, соотнесение чувствительности организма животных и организма человека, посредством теоретического пересчета доз испытуемого вещества, не обеспечивает учета возможных индивидуальных эффектов у людей, обладающих повышенной чувствительностью к токсическим воздействиям. В-третьих, как на методологическом, так и на методическом уровне отсутствует научно обоснованная система соотнесения качественных и количественных проявлений индивидуальной чувствительности организма к экзогенным воздействиям у человека и различных видов лабораторных животных.

В многочисленных исследованиях отечественных и зарубежных авторов признается влияние индивидуальных особенностей организма на выраженность токсического эффекта. Наряду с возрастом и полом, в качестве фактора чувствительности человека к ядам, рассматривается функциональный статус организма [5]. Это обуславливает целесообразность разработки научно обоснованных подходов к персонализации нормирования токсических нагрузок на организм человека.

Одним из основных вопросов, требующих решения в данном направлении, является определение принципов дифференциации внутривидовой выраженности неспецифической чувствительности организма к чрезвычайным экзогенным воздействиям. Кроме этого, для объективного моделирования токсических эффектов при использовании биомоделей необходимо разработать систему межвидового соотнесения возможных уровней чувствительности в популяциях человека и лабораторных животных.

Решение поставленных задач предполагает принципиальный отказ от представлений о существовании абсолютной нормы проявления различных свойств организма, независимо от его индивидуальных, чаще всего генетически детерминированных особенностей. Понятие видовой нормы используется лишь в силу общепринятых взглядов, стремления упорядочить и таким образом упростить для восприятия сущность биологической гармонии. Еще Н.М. Амосов (1963) считал норму понятием весьма относительным и индивидуальным.

Видовая и популяционная вариабельность различных свойств не является бесконечной, а определяется разумной достаточностью существования данной биосистемы и соответственно подразумевает наличие индивидуальной нормы реализации тех или иных признаков, согласованных на уровне организма по сбалансированности активности их проявления. При длительном воздействии факторов внешней среды – средовой нагрузке, в популяции за счет невозможности реализации одних и высокой адаптивности других вариантов интегрального ответа на данную нагрузку общая вариабельность возможных ответов сужается до нескольких стереотипных реакций. Данный феномен «стереотипирования» с общебиологических позиций представляет собой основное неспецифическое проявление текущей динамической изменчивости под действием средовых нагрузок, его генетическое закрепление имеет значение в естественном отборе [6].

Живой организм представляет собой сложную саморегулирующуюся систему. Благодаря функционированию множества каналов прямой и обратной связи, его биологические структуры объединены в интегративное целое: любая часть организма испытывает непрерывные влияния из множества источников и сама служит источником влияния на различные биологические структуры. Обеспечение функционального единства всех систем организма неизбежно предполагает согласование средних уровней их чувствительности, реактивности и активности. Это предопределило целесообразность разработки и внедрения в систему индивидуальной оценки адаптивного потенциала человека и животных нового критерия, интегративно отражающего функциональный статус организма. Важным условием являлась простота, доступность и экспрессность определения этого критерия. В результате ранее выполненных собственных исследований показана возможность применения для этих целей уровня общей неспецифической реактивности, качественно и количественно отражающего степень индивидуальной чувствительности организма к различным экзогенным воздействиям [7, 8]. В качестве показателя уровня общей неспецифической реактивности организма (УОНРО)

предложено использование порога болевой чувствительности (ПБЧ), характеризующегося стабильностью индивидуального проявления [9].

Цель: обосновать методологические подходы и разработать алгоритм методического сопровождения процедур персонализации нормирования токсических нагрузок на организм человека.

Материалы и методы

Исследования выполнялись в два этапа.

На первом этапе работы были изучены общебиологические закономерности внутривидового распределения УОНРО у человека и лабораторных животных.

В исследовании принимали участие 100 клинически здоровых человек 18-25 летнего возраста, подобранных методом случайной выборки при соотношении полов 1:1. Параллельно, в качестве объекта исследования были задействованы представители клинически здоровых лабораторных животных (по 100 особей каждого вида при соотношении полов 1:1):

- кролики (*Oryctolagus cuniculus*), породы «советская шиншилла», аутбредные, 4,5-5,5 месячного возраста, живой массой 3,0-3,5 кг;
- морские свинки (*Cavia*), аутбредные, 2,5-3,0 месячного возраста, живой массой 300-350 г;
- белые крысы (*Rattus norvegicus*), аутбредные, 3,5-4,5 месячного возраста, живой массой 160-220 г;
- золотистые хомячки (*Mesocricetus auratus*), аутбредные, 3,3-4,4 месячного возраста, живой массой 100-150 г;
- белые мыши (*Mus musculus* L.), аутбредные, 60-65 дневного возраста, живой массой 18-19 г.

Животных содержали в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (вивария). Кормление проводили по типовому рациону при свободном доступе к воде. Температуру воздуха в помещении вивария поддерживали в пределах 18-20°C, относительная влажность — 50-60%. Эксперименты были выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755) и требованиями Директивы Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. Все животные были получены из стандартных стокс разведения Волгоградского научно-исследовательского противочумного института.

В качестве показателя УОНРО у людей и животных использовали ПБЧ. Определение ПБЧ у людей проводили посредством лабораторного анальгезиметра «Ugo Basile» (Италия). Ноцицептивная чувствительность регистрировалась путем автоматического измерения времени наступления рефлекторного устранения кисти от светового луча, оказывающего стабильное температурное воздействие пороговой силы на середину тыльной поверхности дистальной фаланги среднего пальца левой руки. Время (секунды), необходимое для устранения кисти от светового луча, принималось равным величине ПБЧ [10].

Измерение ПБЧ у животных осуществлялось ранее разработанным методом, основанным на принципе электрораздражения подошвенной поверхности конечностей через стандартный электролит (0,005 М раствор хлорида натрия) при свободном размещении животных на контактирующей поверхности электропола [11].

На рабочую поверхность электропола помещали определенное количество животных (кроликов – 1, морских свинок – 6, золотистых хомячков и белых крыс - 8, белых мышей - 15) без дополнительной фиксации, предварительно смочив их конечности электролитом. В обоих случаях основой электропола являлась стеклотекстолитовая пластина 30x50 см с поперечно закрепленными на ней медными шинами шириной 6 мм и интервалом 3 мм для кроликов и морских свинок, а для мышей, хомячков, крыс - шириной 3 мм и интервалом 1,5 мм. Напряжение подавали между соседними токопроводящими шинами через лабораторный автотрансформатор и плавно повышали реостатом от 1 В и выше с одновременной фиксацией на вольтметре до момента возникновения реакции устранения конечностей от поверхности электропола. В момент возникновения данной реакции фиксировали напряжения электротока, принимая его за ПБЧ.

На втором этапе работы были исследованы эффекты проявления стандартных токсических нагрузок у лабораторных животных с различным УОНРО. В качестве биопробных животных были задействованы морские свинки 2,5-3,0 месячного возраста, живой массой 300-350 г, белые крысы 3,5-4,5 месячного возраста, живой массой 160-220 г и белые мыши 60-65 дневного возраста, живой массой 18-19 г. При проведении исследований были соблюдены все требования, предъявляемые к организации экспериментальных манипуляций на лабораторных животных. Работа выполнялась на базе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института.

Отработка абсолютной летальной дозы (DCL) осуществлялась на 48 морских свинках, обоего пола, предварительно поровну распределенных в три опытные группы с

учетом УОНРО. Для моделирования острого токсического воздействия использовали эндотоксин *Salmonella typhimurium*, вводя его одновременно всем подопытным животным внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг. На протяжении последующих суток ежедневно проводили индивидуальный учет павших животных.

Отработка стандартной дозы LD₉₅ выполнялась на 18 белых крысах, обоего пола, предварительно поровну распределенных в три опытные группы с учетом УОНРО. Острое токсическое воздействие моделировали путем внутрибрюшинного введения всем подопытным животным сальмонеллезного эндотоксина (*S. typhimurium*) в разовой дозе 15 мг/кг. Затем ежедневно в течение суток проводили индивидуальный учет павших животных.

Оценка подострой токсичности проводилась по результатам "питьевой пробы". Метод исследования основан на способности токсинов вызывать снижение живой массы биопробных животных. Работу проводили на 60 белых мышах, обоего пола, предварительно поровну распределенных в три группы с учетом УОНРО. В I группу вошли особи с высоким, во II группу - со средним, а в III группу - с низким УОНРО. Каждую группу мышей дополнительно разделили на две подгруппы, опытную и контрольную, по 10 особей. Формирование подгрупп производили за 6 суток до опыта (рекомендуемый период адаптации). В этот период средняя масса животных I группы снизилась на 0,1 г, масса мышей II группы осталась неизменной, а в III группа увеличилась на 1,5 г. На 7 сутки всем животным опытных подгрупп одномоментно внутрибрюшинно ввели МДД (10 мг/кг) стафилококкового экзотоксина (*S. aureus*). Одновременно всем мышам контрольных подгрупп аналогичным образом вводили соответствующий объем физраствора. Затем ежедневно в последующие 7 суток производили взвешивание каждой подгруппы животных.

Биометрический анализ изучаемых признаков проводили согласно стандартных рекомендаций [12].

Результаты исследования и их обсуждение

В результате выполнения первого этапа экспериментального исследования для каждого вида лабораторных животных и человека, определены минимальные и максимальные значения ПБЧ. Последующий биометрический анализ полученных данных позволил рассчитать величину классового интервала (λ) и нижнюю границу первого классового интервала (x_n), соотнести видовые границы УОНРО человека и традиционных видов лабораторных животных (табл. 1). За основу деления УОНРО на условные группировки приняли традиционное вычленение противоположных крайних и

одной промежуточной группы. Учитывая наличие в предлагаемом термине слова «уровень», лингвистически верным сочетанием с данной смысловой нагрузкой определили понятия «высокий», «средний» и «низкий».

Таблица 1

Соотнесение видовых границ УОНРО человека и традиционных видов лабораторных животных

Видовой объект	Эмпирические границы ряда (с; В)	λ	x_n	Количество классов	Границы УОНРО (с; В)		
					Высокий	Средний	Низкий
Человек	3 - 41	5,0	0,5	9	0,5-15,4	15,5-30,4	30,5-45,5
Кролики	6 - 69	8,0	2,0	9	2,0-25,0	26,0-49,0	50,0-73,0
Морские свинки	11 - 25	1,8	10,1	9	10,1-15,4	15,5-20,8	20,9-26,2
Крысы	18 - 26	1,0	17,5	9	17,5-20,4	20,5-23,4	23,5-26,4
Хомячки	17 - 28	1,4	16,3	9	16,3-20,4	20,5-24,6	24,7-28,8
Мыши	10 - 18	1,0	9,5	9	9,5-12,4	12,5-15,4	15,5-18,4

Примечание: измерение ПБЧ у человека производится по времени устранения от раздражителя (с), а у животных – по критической величине напряжения электротока (В).

Дальнейший анализ первичных результатов наблюдения был направлен на определение особенностей варьирования и закономерностей распределения ПБЧ в выборочных совокупностях человека и лабораторных животных. Типичными примерами расчета исследуемых показателей являются варианты биометрического анализа распределения ПБЧ в группах кроликов и человека. Интервальный вариационный ряд и полигон распределения частот представлен в табл. 2 и на рисунке 1. При этом, предварительно были определены величины классowego интервала λ (для человека $\lambda = (41 - 3) / (1 + 3.32 \lg 100) = 5$; для кроликов $\lambda = 69 - 6 / 1 + 3.32 \lg 100 = 8$), а также нижние границы первого классowego интервала x_n ($3 - 5/2 = 0.5$ для человека и $6 - 8/2 = 2$ для кроликов).

Таблица 2

Биометрический расчет теоретических частот распределения ноцицептивной чувствительности по классам у человека и кроликов

№ п/п	Объект исследования	Классы	x_i	f_i	t	$f_{(i)}$	f_i'	
							f_i' расч.	f_i' окр.
1	Человек	0.5–4.5	2.5	4	-2.036	0.0498	2.68	3
	Кролики	2.0–9.1	5.5	2	-5.30	0.0001	0.01	0
2	Человек	5.5–9.5	7.5	8	-1.498	0.1295	6.98	7
	Кролики	10.0–	13.5	6	-4.01	0.0001	0.01	0

		17.2						
3	Человек	10.5-14.5	12.5	12	-0.96	0.2516	13.55	14
	Кролики	18.1-25.0	21.5	9	-2.73	0.0096	1.2	1
4	Человек	15.5-19.5	17.5	20	-0.42	0.3653	19.68	20
	Кролики	26.0-33.1	29.5	16	-1.44	0.1415	18.1	18
5	Человек	20.5-24.5	22.5	22	0.12	0.3961	21.26	21
	Кролики	34.2-41.1	37.5	30	-0.16	0.3939	50.5	50
6	Человек	25.5-29.5	27.5	16	0.66	0.3209	17.29	17
	Кролики	42.0-49.2	45.5	17	1.11	0.2155	27.6	28
7	Человек	30.5-34.5	32.5	10	1.20	0.1942	10.46	11
	Кролики	50.0-57.3	53.5	10	2.40	0.0224	2.8	3
8	Человек	35.5-39.5	37.5	6	1.74	0.0878	4.73	5
	Кролики	58.0-65.0	61.5	7	3.68	0.0005	0.06	0
9	Человек	40.5-44.5	42.5	2	2.27	0.0303	1.63	2
	Кролики	66.2-73.1	69.5	3	4.97	0.0001	0.01	0
Сумма:	Человек	-	-	100	-	-	100	100
	Кролики	-	-	100	-	-	100	100

Примечание:

x_i – центры интервалов;

f_i – эмпирические частоты;

t – нормированные отклонения;

$f_{(i)}$ – ординаты нормальной кривой;

f'_i – теоретические частоты.

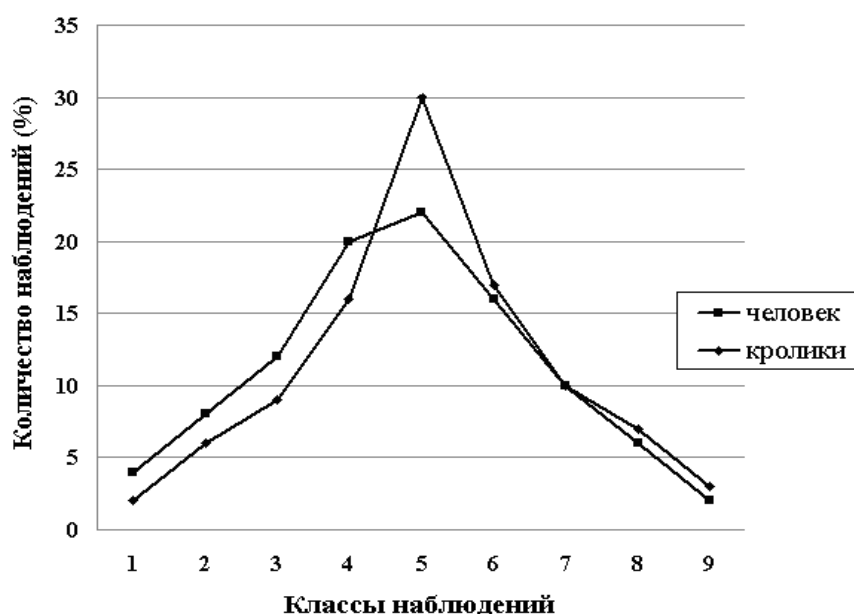


Рис. 1. Полигоны распределения порога болевой чувствительности в выборочных совокупностях человека и кроликов

Далее рассчитали нормальность данных распределений, определив теоретические частоты распределений вариационных рядов. При этом средняя арифметическая M и среднее квадратическое отклонение s_x составили соответственно 21.40 с и 9.282 с для человека, 38.53 В и 6.23 В для кроликов, а мода M_o – 20.75 с для человека и 37.5 В для кроликов. На основании полученных данных были построены кривые распределения частот изучаемого признака для человека (рисунок 2) и кроликов (рисунок 3).

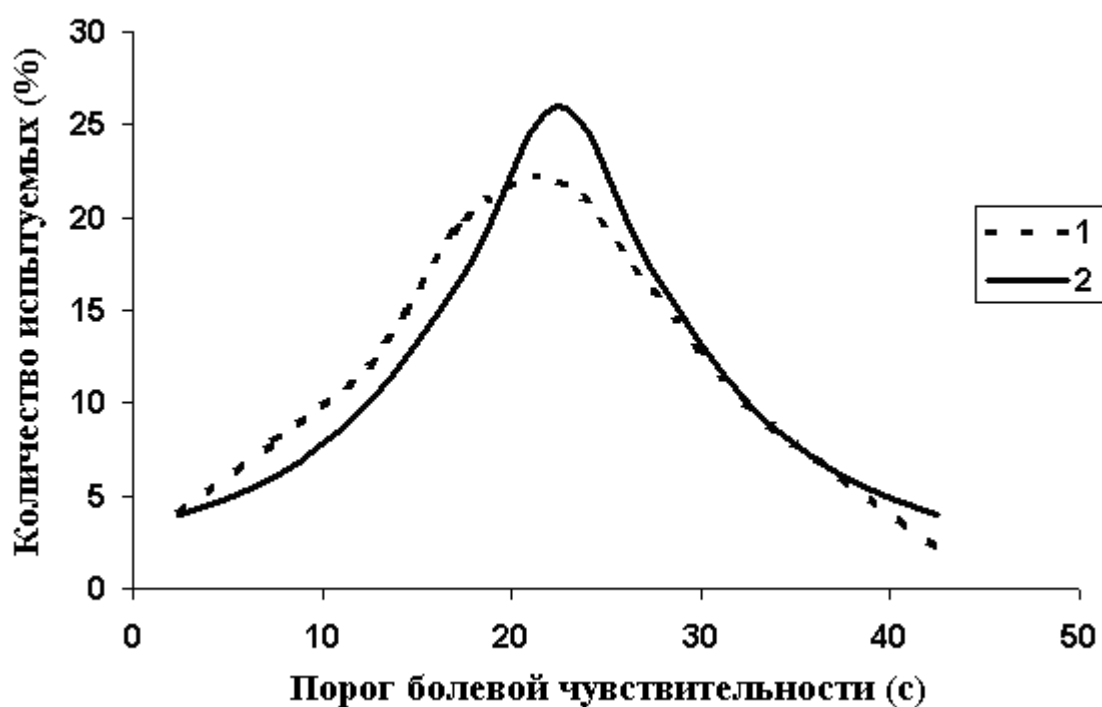


Рис. 2. Эмпирическая (1) и вычисленная по закону нормального распределения (2) кривые распределения порога болевой чувствительности у человека

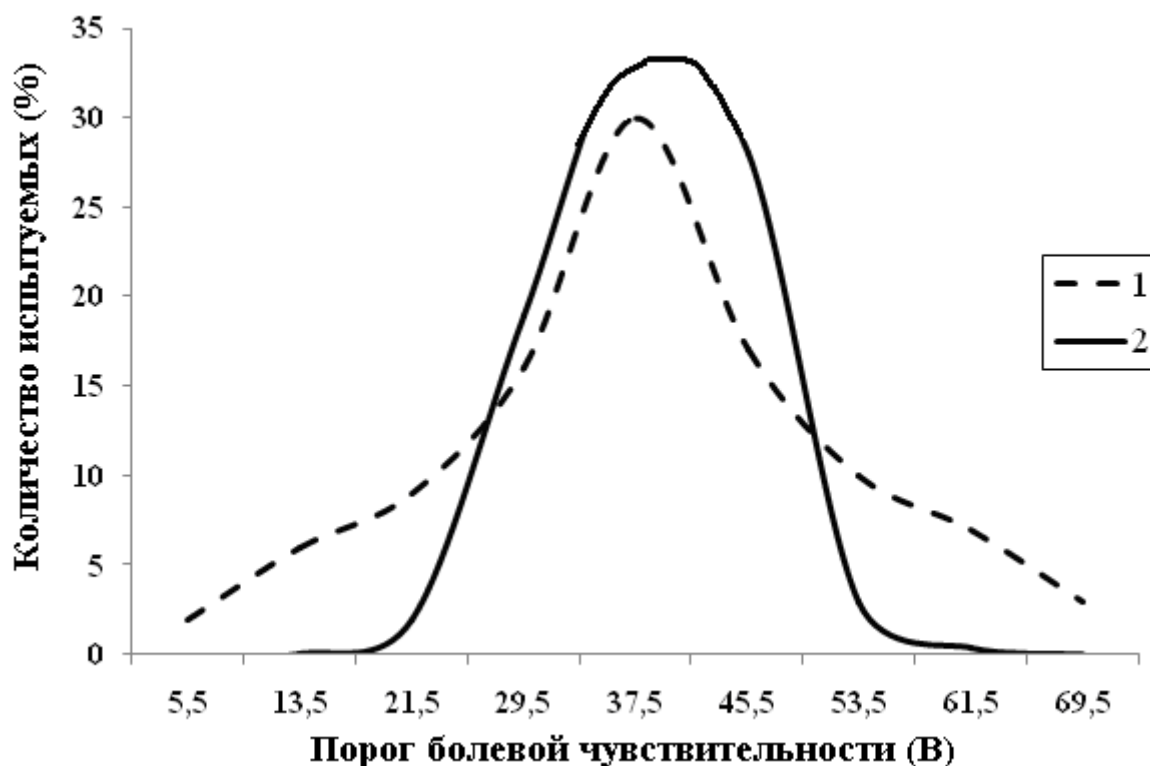


Рис. 3. Эмпирическая (1) и вычислительная по закону нормального распределения (2) кривые распределения порога болевой чувствительности у кроликов

Анализируя графические изображения, можно сделать заключение о положительной асимметрии и отрицательном эксцессе кривых распределения. Для статистического подтверждения данного заключения рассчитали значения показателей асимметрии и эксцесса. Составив рабочую таблицу 3, определили $\sum f_i a$, $\sum f_i a^2$, $\sum f_i a^3$, и $\sum f_i a^4$.

Таблица 3

Вспомогательная таблица определения асимметрии и эксцесса распределения порога болевой чувствительности у человека и кроликов

Объект наблюдения	x_i	f_i	a	$f_i a$	$f_i a^2$	$f_i a^3$	$f_i a^4$
Человек	2.5	4	-4	-16	64	-256	1024
Кролики	5.5	2	-4	-8	32	128	512
Человек	7.5	8	-3	-24	72	-216	648

Кролики	13.5	6	-3	-18	54	-162	486
Человек	12.5	12	-2	-24	48	-96	192
Кролики	21.5	9	-2	-18	36	-72	144
Человек	17.5	20	-1	-20	20	-20	20
Кролики	29.5	16	-1	-26	16	-16	16
Человек	22.5	22	0	0	0	0	0
Кролики	37.5	30	0	0	0	0	0
Человек	27.5	16	+1	16	16	16	16
Кролики	45.5	17	+1	+17	17	+17	17
Человек	32.5	10	+2	20	40	80	160
Кролики	53.5	10	+2	+20	40	+80	160
Человек	37.5	6	+3	18	54	162	486
Кролики	61.5	7	+3	+21	63	+189	567
Человек	42.5	2	+4	8	32	144	576
Кролики	69.5	3	+4	+12	48	+192	768
Сумма:	Человек	100	-	-22	350	-186	3122
	Кролики	100	-	+10	306	+100	2670

Примечание:

x_i – центры интервалов;

f_i – эмпирические частоты;

a – отклонение вариант от нулевого класса.

Затем нашли $b_1 = \sum f_i a/n$ (человек -0.22; кролики +0.1); $b_2 = \sum f_i a^2 / n$ (человек +3.5; кролики + 3.06); $b_3 = \sum f_i a^3 / n$ (человек -1.86; кролики +1.0); $b_4 = \sum f_i a^4 / n$ (человек +31.22; кролики +26.7), а также b_1^2 (человек +0.05; кролики +0.01); b_1^3 (человек -0.01; кролики +0.001); b_1^4 (человек +0.0023; кролики +0.0001); $2 b_1^3$ (человек -0.02; кролики +0.002); $3 b_1^4$ (человек +0.0069; кролики +0.0003); $3 b_1 b_2$ (человек -2.31; кролики +0.918); $6 b_1^2 b_2$ (человек +1.05; кролики +0.1836); $4 b_1 b_3$ (человек +1.64; кролики +0.4).

Приступая к определению коэффициентов асимметрии (As) и эксцесса (Ex), рассчитали показатели вариации: выборочную дисперсию $s_x^2 = b^2 - b_1^2$ (3.45 для человека и 3.05 для кроликов); ошибку выборочной средней s_x (1.86 и 1.7464 соответственно); s_x^3 (6.41 и 5.3265 соответственно); s_x^4 (11.90 и 9.3022 соответственно). Далее определили центральные моменты распределения: μ^3 (0.43 для человека и 0.084 для кроликов); μ^4 (30.62 для человека и 26.4833 для кроликов). Отсюда As по данным, полученным у человека, равен $0.43 / 6.41 = +0.067$; по результатам, полученным у кроликов: $0.084/5.3265 = +0.0157$. Ex соответственно равен $30.62 / 11.90 - 3 = -0.427$ и $26.4833/9.3022 - 3 = -0.1530$.

Полученные величины As и Ex свидетельствуют, что анализируемые распределения характеризуются незначительными положительной асимметрией и отрицательным эксцессом, что полностью совпадает с визуальной оценкой графических изображений.

Дополнительно рассчитав критические значения изучаемых коэффициентов при имеющихся объемах выборок ($n = 100$ в обоих случаях), доказали, что распределение ПБЧ является нормальным. Аналогичные результаты были получены и в отношении распределений ПБЧ в выборочных совокупностях других видов лабораторных животных.

Таким образом, ПБЧ, имея широкий диапазон варьирования, характеризуется симметричностью распределения вариант с накоплением их в центральных классах и постепенным убыванием по мере удаления от центра ряда, что указывает на характерную общебиологическую закономерность распределения свойств данного показателя как у человека, так и у традиционных видов экспериментальных животных. В процессе исследования выраженных особенностей распределения ПБЧ в зависимости от пола испытуемых не установлено. Выявленные закономерности подтверждают обоснованность использования ПБЧ в качестве показателя УОНРО человека и животных.

Для предметного выделения границ высокого, среднего и низкого УОНРО на примере человека, была построена соответствующая гистограмма, наглядно демонстрирующая нормальность распределения исследуемого показателя (рисунок 4).

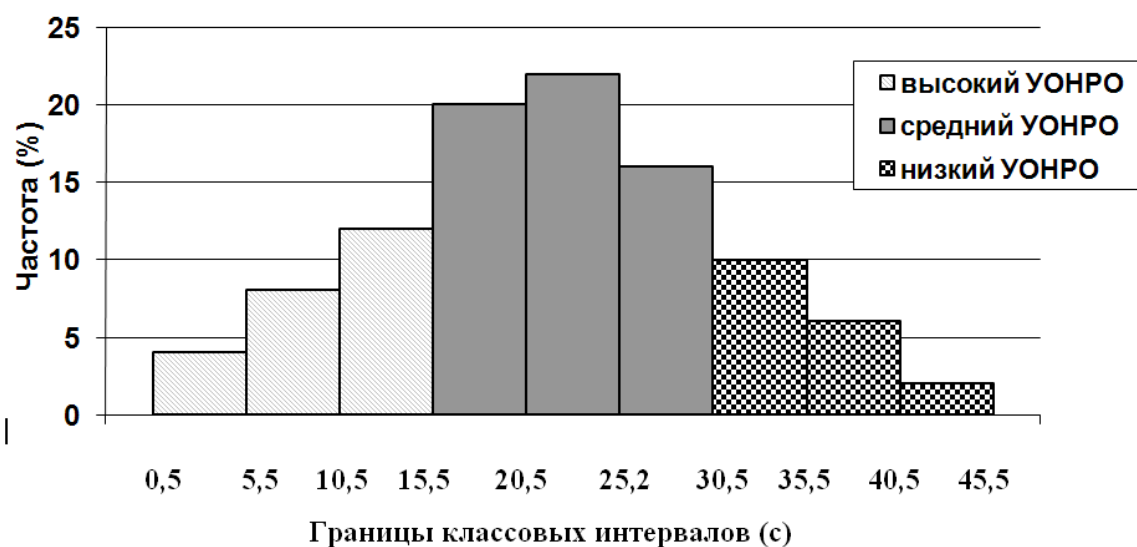


Рис. 4. Гистограмма распределения ПБЧ у людей с определением границ УОНРО

Таким образом, представляется возможной универсальная стандартизация человека и лабораторных животных по УОНРО при организации медико-биологических исследований.

В результате реализации второго этапа экспериментов определили зависимость устойчивости биопробных животных к предъявленному токсическому воздействию от индивидуального УОНРО. При этом, отработка абсолютной летальной дозы (DCL), посредством использования эндотоксина *Salmonella typhimurium*, выявила, что

продолжительность жизни морских свинок после введения токсина составила в группах с высоким УОНРО - $13,8 \pm 1,79$ часа, со средним - $14,6 \pm 1,51$ часа и с низким УОНРО - $17,6 \pm 1,73$ часа (рисунок 5). Статистическая обработка данных определила тенденцию к достоверности различий показателя продолжительности жизни между группами животных с высоким и низким УОНРО ($p < 0,25$).

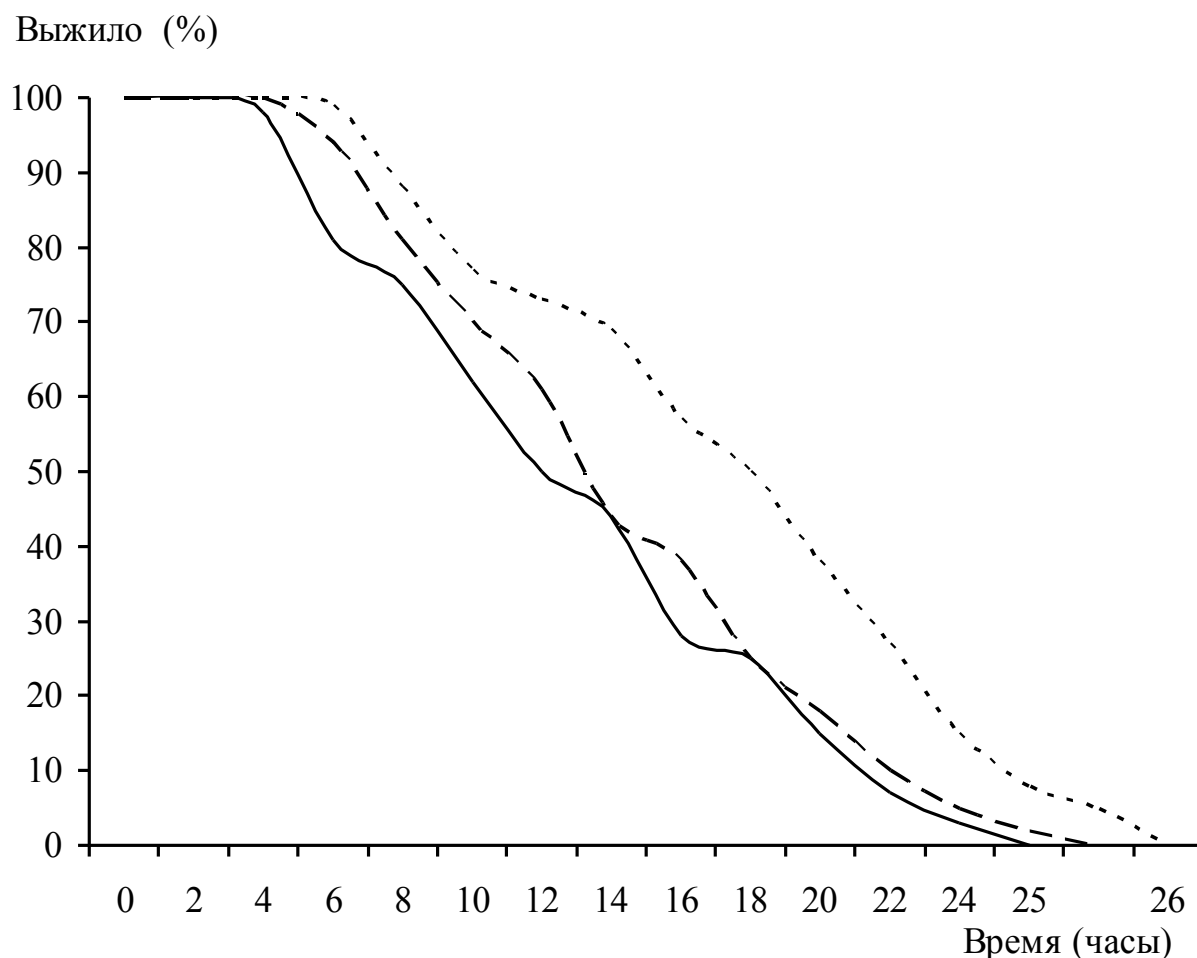


Рис. 5. Динамика гибели морских свинок при воздействии сальмонеллёзного эндотоксина в DCL в зависимости от УОНРО

——-Высокий УОНРО; - Средний УОНРО; -.-.-.-.- Низкий УОНРО

Отработка стандартной дозы LD95 (*S. typhimurium*) на белых крысах выявила зависимость продолжительности жизни и выживаемости подопытных животных от УОНРО. Срок гибели особей, характеризующихся высоким УОНРО, составил $13,3 \pm 2,37$ часа. Срок гибели белых крыс, отличающихся средним УОНРО, составил $16,3 \pm 2,74$ часа. Срок гибели животных с низким УОНРО равнялся $19,2 \pm 2,24$ часа, при этом две особи в данной группе остались живы (рисунок 6). Статистический анализ полученных

результатов определил достоверность различий сроков гибели экспериментальных животных, относящихся к крайним группам по УОНРО ($p < 0,05$).

Выжило (%)

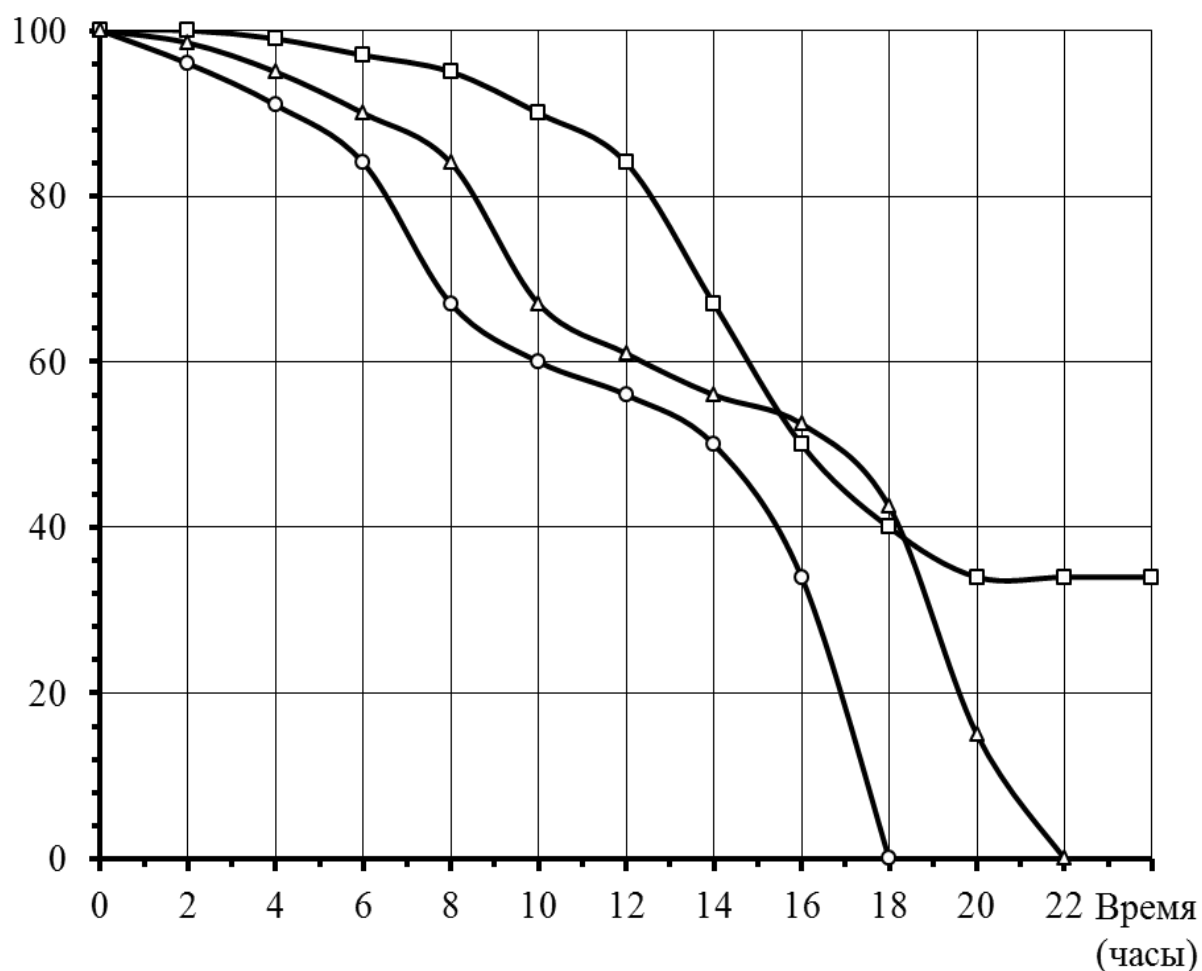


Рис. 6. Динамика гибели белых крыс при воздействии сальмонеллёзного эндотоксина в LD_{95} в зависимости от УОНРО

○ - Высокий УОНРО; △ - Средний УОНРО; □ - Низкий УОНРО

В результате оценки показателей подострой токсичности были выявлены определенные особенности динамики живой массы мышей опытных и контрольных подгрупп в зависимости от УОНРО. С момента инъекций масса животных опытной подгруппы I группы (высокий УОНРО) снизилась ко вторым суткам в среднем на 1,5 г, затем держалась на одном уровне, на четвертый день начала возрастать, а к концу недели ее дефицит составил в среднем 0,5 г от исходного уровня. Живая масса мышей опытных подгрупп II группы (средний УОНРО) за время опыта возросла в среднем на 1,2 г, а III группы (низкий УОНРО) - на 1,5 г (рис.7). Во всех контрольных подгруппах наблюдалось

устойчивое повышение массы животных. При этом, масса мышей I группы превысила исходный уровень на 0,5 г, а II и III групп практически совпала со значениями соответствующих опытных подгрупп.

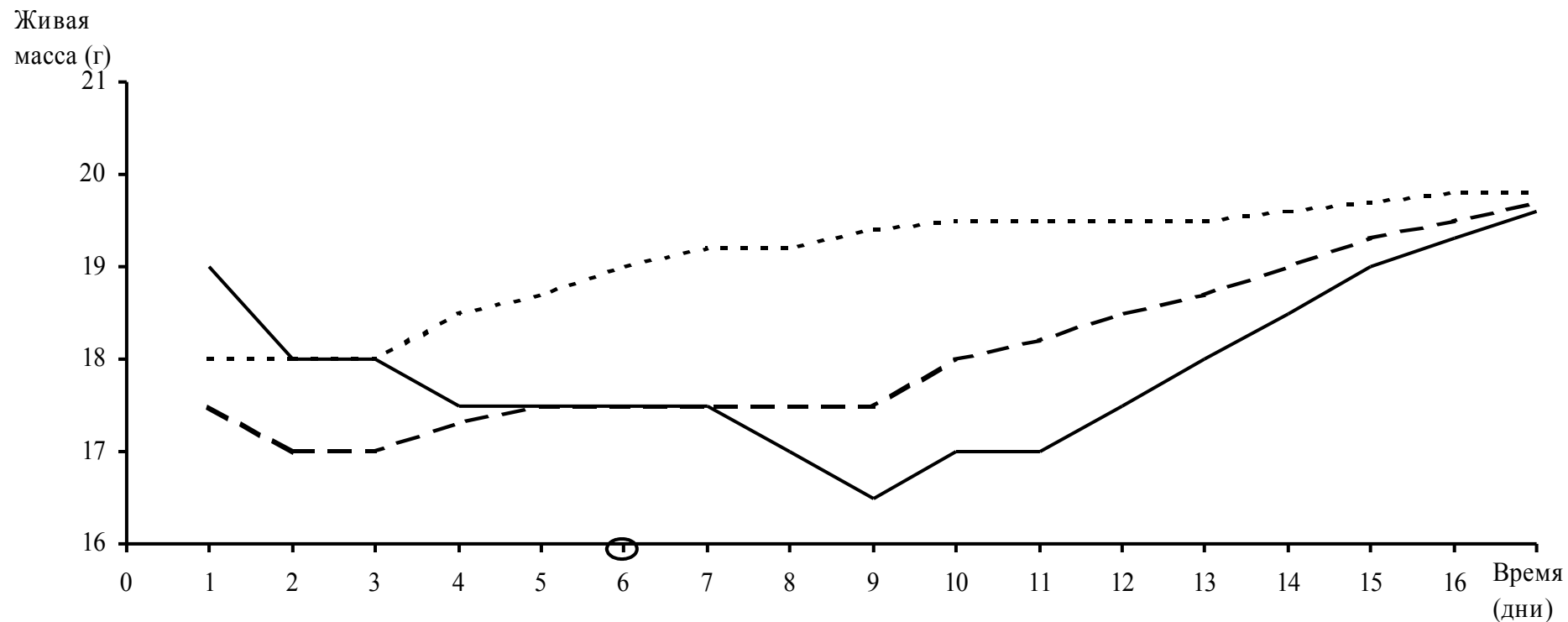


Рис. 7 Динамика изменения живой массы белых мышей, распределённых по УОНРО до и после воздействия МДД стафилококкового экзотоксина

— Высокий УОНРО; - - - Средний УОНРО; Низкий УОНРО
 © - Момент введения токсина

Результаты второго этапа экспериментальных исследований свидетельствуют о несомненном влиянии УОНРО на особенности проявления острой и подострой токсичности у лабораторных животных. При этом, наибольшей устойчивостью отличаются особи с низким УОНРО, а наименьшей - с высоким УОНРО. Индивиды обладающие средним УОНРО характеризуются промежуточным положением в устойчивости к токсинам между крайними группами животных.

В целом, обобщая полученные данные, необходимо выделить ряд принципиальных моментов.

1. Уровень общей неспецифической реактивности, интегративно отражая индивидуальный функциональный статус организма, может быть использован в качестве критерия персонализации нормирования токсических нагрузок на организм человека.

2. Наличие приборного инструментария и адаптированных методов для определения УОНРО позволяет в реальных условиях экспериментальной и практической деятельности количественно оценивать и качественно типологизировать функциональный статус организма человека и лабораторных животных.

3. Возможность соотнесения выраженности индивидуальной чувствительности организма человека и различных видов лабораторных животных позволяет дифференцировать пороги вредного воздействия для биомоделей, с перспективой экстраполяции результатов тестирования на человека.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о возможности оптимизации биологических методов определения токсичности *in vivo*, с целью персонализации нормирования порогов вредного воздействия на организм человека.

Примечание

Исследование выполнено в рамках реализации проекта РГНФ №15-16-34013.

Литература

1. Чупис, В.Н. Применение в экологических исследованиях методов биотестирования на культурах клеток человека и животных / В.Н. Чупис, Л.Л. Журавлева, Д.Е. Иванов // Теоретическая и прикладная экология. - 2008.-№ 4.- С.71-76.

2. Barratt, M.D., Rodford R.A. The computational prediction of toxicity // Current Opinion in Chemical Biology. —2001. —V. 5, N 4. —P. 383-388.

3. Коваленко, В.Н. Альтернативные методы в доклиническом изучении токсичности лекарственных средств /В.Н. Коваленко // Современные проблемы токсикологии.- 2002. - № 4.- С.14-18.

4. Новочадов, В.В. Патоморфология хронического эндотоксикоза: результаты изучения и проблемы // Астраханский мед. журнал. – 2007. – Т.2, №2. – С. 134-135.
5. Лужников, Е.А. Педиатрическая и клиническая токсикология / Е.А. Лужников, Суходолова Г.Н. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2013. - 253 с.
6. Николс, Дж.Г., От нейрона к мозгу / Дж.Г. Николлс, А.Р. Мартин, Б.Дж. Валлас, П.А. Фукс – М.: УРСС, 2010. – 672 с.
7. Mulik, A.B. Standardization of laboratory animals. Features of lipid metabolism depending on the general nonspecific reactivity level / A.B. Mulik, N.G. Tikhonov, V.V. Novochadov // Baltic Journal of Laboratory Animal Science.- 1998.-N 8.- P.238-241.
8. Mulik, A.B. General nonspecific reactivity level as the integrate criterion of the standardization of Biological models/ A.B. Mulik // Baltic J. Lab.Anim. Sci.- 2000.V.10.-P. 86-93.
9. Мулик, А.Б. Биометрическая характеристика болевой чувствительности организма / А.Б. Мулик, Ю.А. Шатыр, М.В. Постнова // Сенсорные системы.- 2013.- Т. 27, № 1.- С.60-67.
10. Мулик, А.Б. Универсальный метод оценки уровня общей неспецифической реактивности организма человека и традиционных видов лабораторных животных / А.Б. Мулик // Вестник волгоградского государственного университета. Серия 11: Естественные науки.-2012.- №2.- С.11-15.
11. Мулик, А.Б. Универсальный метод определения порога болевой чувствительности у традиционных видов лабораторных животных / А.Б. Мулик, Ю.А. Шатыр // Российский журнал боли.- 2012.- №2.- С.7-10.
12. Новиков, Д.А. Статистические методы в экспериментальной биологии и медицине / Д.А. Новиков, В.В. Новочадов. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 84 с.