

Канд. биол. наук С. В. Сперанский

ПРОСТЕЙШИЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ ГЕПАТОТРОПНЫХ И НЕЙРОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Новосибирский научно-исследовательский санитарный институт

В токсикологии сейчас происходит коренная ломка привычных представлений. В частности, ставится вопрос о пересмотре обязательных схем установления ПДК и отказе от длительных хронических экспериментов при обосновании гигиенических регламентов по общетоксическому эффекту (Ю. С. Каган и соавт.). В этих условиях возрастает актуальность выявления наиболее поражаемых систем и органов в кратковременных нетрудоемких экспериментах.

В токсикологических исследованиях широко используется так называемая гексеналовая проба. Многие авторы считают, что, применяя ее наряду с другими методами, можно получить информацию о функциональном состоянии печени (Д. Г. Розин; Е. А. Арзеева; М. С. Гижларян; К. Н. Наджимутдинов и соавт.; Remmer, и др.). В то же время высказывается мнение о ненадежности этой пробы, так как она не всегда результативна для веществ, избирательно поражающих печень.

Анализ данных литературы привел нас к убеждению, что это мнение является прямым следствием практикуемой формы эксперимента, при которой длительность гексеналового сна определяется однократно через заданный, варьирующий в разных опытах и у разных авторов интервал времени после острого отравления или в ходе подострого эксперимента либо в конце хронической затравки. При этом, как правило, учитываются лишь односторонние изменения показателя по сравнению с контролем (в сторону увеличения или уменьшения). Между тем действие любого фактора на любой определяемый параметр имеет фазовый характер. Поэтому даже для самого информативного показателя при его однократном испытании имеется значительный риск констатировать «отсутствие эффекта» по той причине, что определение совпадает по времени с периодом перехода от одной фазы к другой (зона так называемого фальшивого нуля действия).

Этот риск становится меньше при использовании статистических методов, позволяющих оценивать изменение не только средней величины показателя по сравнению с контролем, но и его вариабельности (которая может как возрастать, так и уменьшаться под воздействием исследуемого фактора). Он снижается еще больше при повторном (динамическом) определении показателя в нескольких временных точках от начала воздействия. При динамическом измерении показателя появляется возможность оценивать сдвиги не только в отдельных временных точках, но и по периодам наблюдений, что намного увеличивает мощность всей совокупности применяемых статистических критериев, повышает непротиворечивость и воспроизводимость экспериментальных данных (С. В. Сперанский, 1974). Изложенные приемы постановки эксперимента и анализа результатов были применены в наших исследованиях на белых мышах.

Существенной помехой для неоднократного использования пробы является быстрое привыкание животных к действию гексенала; при постоянной дозе наркотика с каждым разом все большее число мышей остаются в бодрствующем состоянии, что исключает возможность эффективного сравнения результатов в экспериментальных группах. Поэтому нами разработана форма эксперимента, при которой дозы гексенала изменяются от пробы к пробе с таким расчетом, чтобы средняя длительность сна у интактных мышей оставалась относительно постоянной (у подавляющего большинства животных варьировала от $1/2$ до $1\frac{1}{2}$ ч).

Применение гексеналовой пробы на белых мышах составило в наших опытах фрагмент исследований по разработке метода объемной токсиметрии. Общей целью этих исследований является, как известно, установление количественных критериев избирательности действия ядов на важнейшие системы и органы, а средством для ее достижения — определение порогов токсического действия

эталонных веществ при их однократном внутрибрюшинном введении в долях от LD_{50} . При этом пороги определяются с двукратным шагом, т. е. за пороговую принимается минимальная из доз в геометрической прогрессии с коэффициентом 2, при которой еще наблюдаются существенные отличия данного показателя от контроля.

Гексеналовая проба испытана нами при оценке токсического действия пяти эталонных веществ — диоксана, четыреххлористого углерода, этиленхлоргидрина (ЭТХГ), диэтиламина (ДЭА) и ацетона. Диоксан и CCl_4 являются классическими паренхиматозными ядами, широко применяемыми для моделирования поражений печени, а ЭТХГ — политропный яд, который также оказывает выраженное действие на печень, однако удельный вес поражений этого органа в общей сумме токсических эффектов, несомненно, меньше, чем для диоксана и четыреххлористого углерода. Для ДЭА и ацетона избирательное поражение печени нехарактерно. Таким образом, испытанные нами эталонные вещества по уменьшению выраженности избирательного поражения печени на основании данных литературы четко располагаются в следующий ряд: CCl_4 и диоксан; ЭТХГ; ДЭА и ацетон.

Стандарт исследования с применением гексеналовых нагрузок: исходное (фоновое) определение времени засыпания и длительности гексеналового сна при внутрибрюшинном введении гексенала в дозе 80 мг/кг, исключение 10—20% «уклоняющихся» животных и разделение оставшихся на группы, выравненные по исходным значениям трех показателей (масса тела, время засыпания и длительность сна), затравка изучаемыми веществами через 1 сут после определения фона, введение гексенала из расчета 100 мг/кг через 6 ч после затравки, 120 мг/кг через 1 сут, 120 мг/кг через 2 сут и 100 мг/кг через 1 нед.

В опыт брали одновременно четыре группы мышей (контрольную из 12 и 3 опытные по 10). Действие каждого эталонного яда испытывали в широком спектре доз (от 6 до 12 с двукратным шагом). При этих условиях для испытанных веществ по влиянию на длительность гексеналового сна были получены следующие пороги: для диоксана $1/8192 LD_{50}$, для CCl_4 $1/4096 LD_{50}$, для ЭТХГ $1/1024 LD_{50}$, для ацетона $1/8 LD_{50}$; для ДЭА порог не был достигнут (даже $1/4 LD_{50}$ оказалась недействующей).

Таким образом, заданные эталонными веществами различия в степени выраженности избирательного поражения печени отразились на величинах доз, влияющих на длительность гексеналового сна, необычайно четко — крайние члены ряда различались более чем в 2000 раз! Это позволяет нам предложить следующую классификацию ядов по выраженности их избирательного действия на функцию печени: 1-й класс избирательности (преобладание поражений печени) — порог по влиянию на длительность гексеналового сна менее $1/2048 LD_{50}$, 2-й класс (поражения печени значи-

тельны) — порог от $1/256$ до $1/2048 LD_{50}$, 3-й класс (поражения печени в числе прочих) — порог от $1/6$ до $1/128 LD_{50}$, 4-й класс (поражения печени нехарактерны для данного яда) — порог более $1/16 LD_{50}$.

Приведенный результат качественно аналогичен полученному нами ранее на тех же веществах при применении бромсульфалеиновой пробы (С. В. Сперанский, 1975). Однако тогда различие между порогами для крайних представителей «оси» составило всего 5 двукратных шагов (в 32 раза), что означает существенно меньшую надежность при выделении классов избирательности поражения печени. Кроме того, бромсульфалеиновая проба значительно более трудоемка, чем гексеналовая. С помощью последней лучше достигается поставленная цель.

В литературе мы не обнаружили попыток использовать наряду с длительностью гексеналового сна другой, еще менее трудоемкий показатель, к тому же определяемый попутно с указанным, — время засыпания, т. е. время от введения яда до наступления сна. Длительность гексеналового сна обусловлена в первую очередь работой печени, так как она определяется временем, необходимым для того, чтобы концентрация гексенала в кровяном русле стала ниже уровня, вызывающего наркотический сон. Этот уровень, зависящий от состояния центральной нервной системы, условно можно принять за постоянный, так как он варьирует значительно меньше, чем скорость удаления гексенала из кровяного русла (справедливость этого допущения доказывается, в частности, приведенными выше данными). В таком показателе, как время засыпания, соотношение «нервного» и «печеночного» компонентов противоположно. К моменту засыпания лишь весьма незначительная часть гексенала удаляется из крови. Та же самая (практически) концентрация гексенала в крови дает тот же самый эффект (боковое положение) через неодинаковые интервалы времени для разных животных. Отличие обуславливается различным состоянием центральной нервной системы, в первую очередь корковых клеток, ибо они наиболее чувствительны к действию наркотика. На основании этих общих предположений мы ожидали, что время засыпания окажется показателем нейрогенного действия ядов.

По данным литературы, из пяти взятых нами эталонных веществ для трех (ацетона, ДЭА и CCl_4) характерна высокая избирательность поражения ими нервной системы, два других (диоксан и ЭТХГ) не могут быть отнесены к веществам нейрогенного действия. Пороги токсического эффекта, определенные в результате применения нашей схемы эксперимента и приемов анализа данных по влиянию на время засыпания, оказались для этих веществ следующими: $1/1024 LD_{50}$ (для CCl_4), $1/256 LD_{50}$ (для ацетона), $1/64 LD_{50}$ (для ДЭА), $1/16 LD_{50}$ (для диоксана) и $1/4 LD_{50}$ (для ЭТХГ). Таким образом, три вещества, избирательно поражающих нервную си-

стему, имели более низкие пороги. Границу между наличием и отсутствием избирательного поражения нервной системы по времени засыпания, по-видимому, целесообразно провести на уровне дозы, промежуточной между порогом для ДЭА и порогом для диоксана, т. е. относить к избирательно поражающим нервную систему те вещества, для которых порог ниже или равен $1/32 LD_{50}$. Разумеется, возможность альтернативной оценки (наличие или отсутствие данного типа избирательности) предполагает более грубый, «прикидочный», ответ, чем градирированная характеристика признака.

Надо, однако, иметь в виду особую сложность учета нейрогенной избирательности действия ядов по сравнению с прочими типами органической или системной избирательности. Эта сложность проистекает из особой роли нервной системы как интегратора всех функций организма. Отсутствие первичных поражений нервной системы легко маскируется вторичными ее реакциями на любое воздействие. Поэтому применительно к нейрогенным эффектам даже альтернативная форма оценки может быть

квалифицирована как успех исследования, тем более, что она достигается довольно легко с получением градирированной характеристики избирательности поражения печени.

Необходимо упомянуть, что вопрос о получении градирированных характеристик нейрогенных эффектов на основе специально разработанных для этой цели схем эксперимента рассмотрен нами ранее (С. В. Сперанский, 1977).

Таким образом, нами установлено, что гексеналовая проба может быть эффективным способом быстрой оценки факторов химической этиологии с точки зрения их способности избирательно поражать печень и нервную систему. При этом длительность гексеналового сна информативна для характеристики поражений печени, а время засыпания — для оценки нейрогенных эффектов. Учет доз, пороговых по влиянию на эти показатели (в долях от LD_{50}), позволит определить место вновь изучаемого вещества в предлагаемых нами классификационных шкалах избирательности.

ЛИТЕРАТУРА

Арзеева Е. А. — Гиг. и сан., 1966, № 3, с. 24—28.
Гижларян М. С. — Гиг. труда, 1976, № 10, с. 49—50.
Кагай Ю. С., Кацнельсон Б. А., Курляндский Б. А. — Гиг. и сан., 1979, № 3, с. 8—11.
Наджимутдинов К. Н., Камилов И. К., Мурзабеков Ш. М. — Фармакол. и токсикол., 1974, № 5, с. 533—537.
Розин Д. Г. — Там же, 1964, № 5, с. 613.
Сперанский С. В. — В кн.: Гигиена и профессиональные заболевания. М., 1974, с. 116—125.
Сперанский С. В. — Гиг. и сан., 1974, № 3, с. 90—92.

Сперанский С. В. — В кн.: Гигиена и профессиональные заболевания. М., 1975, с. 180—184.
Сперанский С. В. — В кн.: Гигиена труда и профилактика профессиональных заболеваний рабочих угольной и химической промышленности Сибири. М., 1977, с. 73—75.
Сперанский С. В. — В кн.: Гигиенические аспекты охраны внешней среды и оздоровления условий труда при развитии крупных промышленных комплексов в Сибири. М., 1977, с. 162—165.
Remmer H. — Am. J. Med., 1970, v. 49, p. 617—629.