

С. В. Сперанский

ТАКТИКА ЭКСПЕРИМЕНТА ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ LD<sub>50</sub>

Новосибирский НИИ гигиены

Как известно, классический способ определения LD<sub>50</sub> требует испытания каждой дозы на не менее чем 6 животных. Минимальное число доз, достаточное для расчета параметров летальности, равно 4:1 — доза, при которой все животные выживают, 2 — частично смертельные, 1 — вызывающая гибель всей группы. При этом интервал между дозами должен быть постоянным. Между тем исследуемые вещества могут существенно различаться по широте зон токсического действия (крутизне наклона кривой летальности). Применение такого интервала (шага) между дозами, который во всех случаях обеспечит соблюдение упомянутых требований, ведет к «перерасходу» животных, испытанию «лишних» доз, которые не дают никакой дополнительной информации о действии яда.

Мы предлагаем такую тактику эксперимента, при которой шаг между дозами определяется в ходе самих опытов. В итоге необходимое число животных сокращается примерно вдвое при соблюдении требований классического метода определения параметров летальности.

Первый этап — нахождение широкой (8-кратной) вилки. Обозначим ориентировочную LD<sub>50</sub> исследуемого ве-

щества буквой Г (гипотетическая). На I этапе исследования испытываем дозы  $\frac{1}{8}$  Г, Г и 8 Г (каждую на 1 животном). II этап исследования определяется результатом I.

Второй этап — нахождение узкой (двукратной) вилки. Если все животные выжили, испытываются дозы 16 Г и 32 Г. Если все животные погибли, испытываются дозы  $\frac{1}{16}$  Г и  $\frac{1}{32}$  Г. Если на I этапе получена «вилка», т. е. при действии больших доз (или наибольшей) животные погибли, а при действии меньшей (или наименьшей) выжили, то испытываются 2 дозы с двукратным шагом внутри широкой вилки. Так, например, если погибло животное, получившее дозу 8 Г, а животное, получившее дозу Г, выжило, то испытываются дозы 4 Г и 2 Г. Как и на I этапе, каждая доза испытывается на 1 животном. При этом полагают, что минимальная смертельная доза при двукратном шаге не выйдет за пределы 500-кратного интервала ( $\frac{1}{16}$ —32 Г). Тогда в итоге II этапа мы обязательно будем иметь 2 дозы, отличающиеся друг от друга в 2 раза, большая из которых вызывает гибель животного, а меньшая не вызывает.

Третий этап — обеспечение пределов двукратной вилки. На данном этапе число животных увеличивается до 6. Так, если от дозы 4 Г животное погибло, а после введения дозы 2 Г выжило, то обе дозы испытываются еще на 5 животных каждая. Результаты испытания могут быть следующими:

1. При действии дозы 4 Г все животные погибли, при действии дозы 2 Г все выжили.

2. Обе дозы вызвали частичную смертность животных.

3. При действии дозы 4 Г все животные погибли, а доза 2 Г оказалась частичносмертельной.

4. Доза 4 Г оказалась частичносмертельной, а при действии дозы 2 Г все животные выжили.

Четвертый этап — основной. Вариант 1 свидетельствует об узкой зоне токсического действия. На IV

этапе испытываются дозы с шагом  $\sqrt[3]{2}$  или 1,26, т. е.  $2 \cdot 1,26 \text{ Г} = 2,52 \text{ Г}$  и  $2 \cdot (1,26)^2 \text{ Г} = 3,16 \text{ Г}$  (каждая на 6 животных). Вариант 2 свидетельствует о широкой зоне токсического действия. На IV этапе число животных при испытании доз 8 Г и Г дополняется до 6 (т. е. каждая из

этих доз испытывается еще на 5 животных). Варианты 3 и 4 характеризуют среднюю широту зоны токсического действия. Для них применяется шаг  $\sqrt{2}$  или 1,43, т. е. для варианта 3 испытываются дополнительные дозы  $2 \cdot 1,43 \text{ Г} = 2,86 \text{ Г}$  и 1,43 Г, а для варианта 4:  $2 \cdot 1,43 = 2,86 \text{ Г}$  и  $4 \cdot 1,43 = 5,72 \text{ Г}$ . В ряде случаев результаты, полученные на IV этапе, могут позволить провести расчет  $LD_{50}$  одним из классических методов (например, по Керберу). Однако при получении результатов, соответствующих вариантам 2—4, требуется испытание еще одной дозы («вверх» или «вниз») — с заданным шагом (V этап, дополнительный).

По нашим данным (определение параметров летальности для 48 веществ), средний «расход» животных при использовании описанной тактики составляет около 30. Подчеркнем, что «экономия» животных достигается исключительно за счет гибкого применения адекватного шага (интервала между дозами) без снижения требований к точности эксперимента.