

ДИСКУССИЯ

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА КУМУЛЯЦИИ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

В. С. Тритэк, А. Е. Гуляев¹

Предлагается определение коэффициента кумуляции, который, помимо количественного выражения кумулятивного эффекта, позволяет осуществлять планирование режима дозирования при повторных введениях вновь исследуемых веществ.

Ключевые слова: коэффициент кумуляции; экспериментальное (доклиническое) изучение новых фармакологических веществ.

Под кумуляцией принято понимать усиление действия яда при повторном его воздействии [2]. Степень выраженности этого свойства зависит от фармакокинетических параметров вещества, особенностей его метаболизма и механизма действия. В условиях отсутствия этой информации на начальных этапах исследований планирование режимов дозирования вещества в подострых и хронических опытах превращается в нетривиальную задачу. Изучение кумулятивных свойств, не претендуя на получение исчерпывающей информации о специфике действия вещества, призвано в относительно быстром и малозатратном тесте предоставить исследователю информацию о возможном кумулятивном действии и степени его выраженности.

В различных методических руководствах [3, 4] выбор конкретного метода исследования кумулятивных свойств, как правило, оставляется на усмотрение исследователя. При этом рекомендации учитывать результаты этих исследований для определения высших доз в подострых и хронических экспериментах, очевидно, апеллируют к интуиции, опыту и здравому смыслу исследователя. Действительно, величина коэффициента кумуляции, вычисленного по той или иной формуле, на основании результатов, полученных в экспериментах по той или иной схеме, способна точно указать лишь место данного вещества в ряду других веществ, ранее исследованных в равных условиях. Не умаляя роли неформальных методов в экспериментальной практике, можно попытаться определить коэффициент кумуляции таким образом, чтобы он исполнял роль инструмента для планирования исследований с повторными воздействиями.

Коэффициент кумуляции (k) естественно определить, как долю вещества, продолжающую оказывать своё действие ко времени следующего введения таким образом, что эффективная доза $D_i = D_0 + k \cdot D_{i-1}$, $i = 0$,

..., n ; где D_0 — интермиттирующая доза. Вероятность гибели животных от последовательности из $n + 1$ введений можно рассчитать как вероятность появления хотя бы одного из совокупности событий [1]:

$$P = 1 - \prod_{i=0}^{i=n} (1 - p_i) ,$$

где p_i — вероятность гибели животных при воздействии вещества в эффективной дозе D_i . Коэффициент кумуляции при этом выступает в качестве меры зависимости между последовательно вводимыми дозами D_0 .

Формальное определение можно пояснить на примере. Положим, что в результате исследования острой токсичности некоего вещества определены параметры его острой токсичности:

$$p = \Phi(-14,45 + 5,74 \log(x)) ,$$

где p — вероятность гибели животных после однократного внутрижелудочного воздействия в дозе x (мг/кг), $\Phi(x)$ — функция распределения стандартной нормальной переменной. Предполагая наличие у данного вещества свойства кумуляции, предпримем исследование, в котором группе животных будем вводить препарат ежедневно в дозе 100 мг/кг. Смертность при однократном воздействии такой дозы не превышает 1/100 (верхняя граница 95 % доверительного интервала). Введение будем проводить в течение пяти дней. Таким образом, накопленная доза составит 500 мг/кг. Однократное воздействие такого уровня способно привести к гибели от 7/10 до 99/100 крыс (ЛД₈₅). Допустим, что по истечении двух недель после последнего введения препарата в живых осталось 8 из 10 крыс. (Гибель двух крыс соответствует однократной дозе 234,5 мг/кг (153 ÷ 285 мг/кг)). Нетрудно определить, используя, например, стандартный офисный Excel, что коэффициент кумуляции в соответствии с предложенным формализмом оценивается в 47,2 %. Это означает, что, получая ежедневную дозу в

¹ Лаборатория фармакологии и токсикологии (зав. — А. Е. Гуляев), Национальный центр биотехнологии республики Казахстан, Казахстан, 010000, Астана, ул. Валиханова, 13/1. E-mail: tritek.v@yandex.ru

100 мг/кг, эффективные дозы (D_i) составляют последовательность: 100, 147, 170, 180, 185 мг/кг. Вероятности гибели при однократном воздействии этих доз составляют соответственно последовательность p_i : 0,002, 0,023, 0,049, 0,067, 0,076. Итоговая статистика — $P = 0,2$. С учётом дискретного характера экспериментальных данных правильнее было бы представить результат в виде диапазона (43,3 ÷ 51,3 %), который можно сократить, конечно, ценой дополнительных экспериментов. Полученную оценку можно использовать для определения потенциального риска от применения вещества в различных дозах и сроках, либо, задавая приемлемую вероятность, определять соответствующие режимы введения исследуемого вещества. Например, для вышеизложенного случая — вероятность гибели животных $< 0,01$ соответствует ежедневному введению вещества в течение 30 дней в дозе 40 мг/кг (здесь для подсчёта использована оценка $k = 0,513$).

Приведённая в примере схема эксперимента не является единственно возможной. С равным успехом можно использовать другие, отвечающие предпочтениям исследователя или его ожиданиям специфики действия исследуемого вещества. Не исключается, в том числе, и популярная схема R. K. Lim [2, 4, 5].

В предлагаемом определении коэффициента кумуляции не накладывается никаких ограничений на диапазон значений этой величины. Величины меньше — 1 и сопоставимые с LD_{100}/D_0 не рассматриваются как практически не достижимые при проведении реальных исследований кумулятивного действия. В первом случае мы должны говорить о снижении естественной смертности, во втором — о гиперчувствительности. Отрицательные значения будут соответствовать развитию процессов толерантности. Область значений больше единицы или вообще значения большие, нежели полученные при исследовании фармакокинетики, должны свидетельствовать об исчерпании резервов адаптации.

Принимая данное определение, необходимо ясно понимать, что здесь оценка строится по единственному наблюдению — в точке, определяемой выбранной

схемой дозирования (доза, временной интервал между введениями, общее число введений). В данной точке коэффициент кумуляции (здесь в форме $(D_i - D_0)/D_{i-1}$) однозначно определяется, используя закономерность, выявленную в острых экспериментах. Корректность использования полученного коэффициента для прогнозов прямо связана с адекватностью формы коэффициента кумуляции реальному процессу интоксикации, его способностью эффективно учитывать интересующую нас зависимость в широком диапазоне доз и времени воздействия вещества. Очевидно, что невозможно предложить универсальную эмпирическую формулу, учитывающую *a priori* всё многообразие механизмов развития интоксикаций. Не говоря уже о принципиальной неприменимости такого рода оценок для веществ, реализующих действие по нескольким механизмам, существенно различающимся по временным параметрам. Поэтому отношение к предлагаемому определению коэффициента кумуляции с его линейной зависимостью от предыдущего воздействия должно быть как к одному из спектра возможных. Причём, степень доверия к предсказаниям, полученным с его использованием, не повышается опытом успешного применения в отношении действия других веществ. Образно говоря, это вовсе не светоч во тьме неведения, но всё же опора для манипулятивного интеллекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Е. Гмурман, *Теория вероятностей и математическая статистика*, 9-е изд., Высшая школа, Москва (2003).
2. *Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия)*, И. В. Саноцкий (ред.), Москва (1970).
3. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, В. П. Фисенко (ред.), Москва (2000).
4. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).
5. R. K. Lim, K. G. Rink, H. G. Glass, E. Soaje-Echague, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **130**, Mar 1, 336 – 53 (1961).

Поступила 21.04.10

METHOD FOR DETERMINING CUMULATION FACTOR IN TOXICOLOGICAL STUDIES

V. S. Tritex and A. E. Gulyaev

Laboratory of Pharmacology and Biotechnology, National Center for Biotechnology, ul. Valikhanova 13/1, Astana, 010000, Kazakhstan;

e-mail: tritek.v@yandex.ru

A new method for determining the cumulation factor is proposed, which quantitatively describes the cumulative effect and allows the dosage regimes for repeated drug administration to be planned.

Key words: Cumulation factor, experimental (preclinical) investigation of drugs