

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 616-099+616.24-005.98
DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.10



Научная статья

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ МЕТОДИК ИССЛЕДОВАНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРЫХ ИНТОКСИКАЦИЙ НЕЙРОТРОПНЫМИ ТОКСИКАНТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е.Б. Шустов¹, М.В. Мельникова¹, П.К. Потапов^{1,2}, В.А. Башарин²,
А.В. Бельская¹, А.С. Мелехова¹, А.В. Ладочкина¹

¹Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова, Российская Федерация, 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Российская Федерация, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

В биомедицинских исследованиях информационные характеристики моделей определяются редко, что во многом связано с необязательностью их оценок, низким уровнем стандартизации биомедицинских исследований, большой вариативностью применяемых методов моделирования и оценки состояния животных. Тем не менее ужесточение требований к выполнению стандартов GLP при проведении доклинических исследований ведет к повышению значимости оценки информационных показателей в токсикологических и фармакологических исследованиях.

В ходе выполнения экспериментального исследования по моделированию отдаленных последствий острого отравления нейротоксикантами было установлено, что к концу 4-й недели после интоксикации модельным нейротоксикантом ацетатом свинца в 100 % случаев и у 20 % лабораторных животных после отравления метанолом формируются признаки отдаленных последствий острых отравлений, проявляющихся компонентами психоорганического и астенического синдромов – нарушениями структуры ответной реакции организма на световой и электрошоковый раздражитель, невозможностью выполнения интенсивной физической нагрузки в тесте бега на treadmills, снижением способности к воспроизведению навыков пассивного избегания болевого воздействия. Указанные изменения функционального состояния животных носят статистически достоверный характер.

Было выявлено, что показатели, даже характеризующиеся высокой дифференцирующей способностью (специфичность) в отношении отдельных проявлений отдаленных последствий острых отравлений, характеризуются недостаточной селективностью, точностью и информационной значимостью. Комплексная оценка экспериментальной модели на основе критерияльного подхода обеспечивает более высокую информационную значимость, чем показатели по отдельности. Однако наиболее приближенной к оптимальной системе выявления отдаленных последствий острых отравлений нейротропными токсикантами является дискриминантная модель.

Ключевые слова: биологическое моделирование, интоксикация, отравление, нейротоксикант, отдаленные последствия, ацетат свинца, информативность, мультифакторный анализ.

© Шустов Е.Б., Мельникова М.В., Потапов П.К., Башарин В.А., Бельская А.В., Мелехова А.С., Ладочкина А.В., 2024
Шустов Евгений Борисович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник (e-mail: shustov-msk@mail.ru; тел.: 8 (921) 952-27-73; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>).

Мельникова Маргарита Викторовна – научный сотрудник (e-mail: melnikova.m.v@toxicology.ru; тел.: 8 (906) 249-78-91; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2996-5151>).

Потапов Петр Кириллович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник; докторант (e-mail: forwardspb@mail.ru; тел.: 8 (952) 283-78-78; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4602-4468>).

Башарин Вадим Александрович – доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8548-6836>).

Бельская Алиса Владимировна – научный сотрудник (e-mail: belskaya.a.v@toxicology.ru; тел.: 8 (962) 699-00-96; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9343-4144>).

Мелехова Александра Сергеевна – старший научный сотрудник (e-mail: melehova.a.s@toxicology.ru; тел.: 8 (911) 786-40-27; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1803-3815>).

Ладочкина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник (тел.: 8 (921) 794-35-08; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7533-7698>).

Биологическое моделирование патологических процессов – мощный инструмент в арсенале современной медицины, позволяющий изучать механизмы развития заболеваний, тестировать новые лекарственные препараты и методы лечения, а также разрабатывать инструменты диагностики и профилактики. Чем точнее биомодель, тем реалистичнее полученные результаты и тем более эффективны разработанные на ее основе медицинские технологии. В современном мире увеличивается число диагностических и прогностических тестов, поэтому необходимо оценивать их диагностическую информативность [1]. Важно отметить, что решение задач прогнозирования исходов заболеваний (поражений) требует максимально достоверной диагностики как при поступлении больного в лечебное учреждение, так и в динамике по ходу лечебного процесса. Биологическое моделирование помогает улучшить процесс диагностики и снизить число необоснованных назначений, что повышает эффективность медицинской помощи и снижает затраты, а также выявить патогенетически обоснованные показатели, характеризующиеся максимальной прогностической значимостью [2].

В токсикологических и фармакологических исследованиях оценка информационных характеристик моделей является ключевым моментом, но, к сожалению, часто игнорируется. Это связано с несколькими факторами:

- отсутствие обязательных требований: в большинстве случаев оценка информационных характеристик моделей не является обязательной процедурой;

- низкий уровень стандартизации: в биомедицинских исследованиях наблюдается большая вариативность применяемых методик, в том числе методов моделирования и оценки состояния животных. Отсутствие стандартизированных подходов затрудняет сравнение результатов различных исследований и оценку информационных показателей;

- сложность и трудоемкость: оценка информационных характеристик моделей требует специальных знаний и методов, а также дополнительного времени и ресурсов.

С усилением требований к стандартам GLP (Good Laboratory Practice) в доклинических исследованиях оценка информационных показателей становится все более актуальной. Стандарты GLP направлены на обеспечение качества и достоверности полученных результатов. Они регламентируют все этапы проведения доклинических исследований, включая выбор моделей, методы исследований, анализ данных и документирование.

Показатели информативности – количественные характеристики диагностической или аналитической методики, используемые для оценки значи-

мости ее применения в практике и позволяющие сопоставить однородные методы исследования или измерения друг с другом. Они не имеют размерности, что позволяет применять их для характеристики различных методик, и относятся к относительным величинам, характеризующим частоту возникновения ошибок в процессе их применения. Основными показателями информативности метода являются чувствительность и специфичность, вспомогательными – точность, прогностичность положительного и отрицательного результатов [3–9]. Понятия клинической информативности диагностических тестов, показатели и критерии оценки известны, стандартизованы и даже являются обязательными при описании медицинских технологий диагностики и скрининга, однако их редко используют в отечественных публикациях (не более чем в 10 % клинических публикаций, посвященных новым диагностическим методикам) [10–14].

Цель исследования – оценка информативности методик исследования проявлений отдаленных последствий острых интоксикаций нейротропными токсикантами в эксперименте.

Реализация данной цели потребовала выполнения следующего алгоритма:

1. На основе анализа материалов экспериментальных исследований по разработке биомедицинской модели изучения отдаленных последствий острых отравлений нейротропными токсикантами сформировать перечень методик исследования и их показателей, позволяющих достоверно дифференцировать признаки отдаленных последствий.

2. Определить критерии отнесения результатов исследований по выбранным методикам и показателям к категории «отдаленные последствия острых отравлений нейротропными токсикантами».

3. Сформировать обучающую выборку объектов исследования для выделения в многомерном пространстве признаков группы объектов, имеющих признаки отдаленных последствий острых отравлений нейротропными токсикантами.

4. Провести классификацию объектов исследования на группы по критерию наличия отдаленных последствий острых отравлений, верифицировать их наличие.

5. Провести оценку возможности отнесения объектов к группе «имеющие отдаленные последствия острых отравлений» по отдельным признакам и интегральным подходам.

6. Оценить ошибки классификации первого и второго рода при использовании разных подходов к отнесению объектов к группе «имеющие отдаленные последствия острых отравлений», рассчитать числовые характеристики (чувствительность, специфичность, точность) методики и ее общую информативность¹.

¹ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / под ред. Н.Д. Буян-тяна, А.Н. Васильева, О.Л. Верстаковой, М.В. Журавлевой, В.К. Лепяхина, Н.В. Коробова, В.А. Меркулова, С.Н. Орехова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

Материалы и методы. В исследовании использовали здоровые нелинейные белые крысы-самцы с массой тела на начало исследования 180–220 г. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» [14]. Сопоставимость экспериментальных групп обеспечивали рандомизацией животных, признанных годными для включения в исследование. В ходе предварительных исследований было выполнено определение ЛД₅₀ исследуемых токсикантов по методу В.Б. Прозоровского [15].

Исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России (протокол № 4/24 от 04.04.2024). Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с ГОСТ 33215-2014 от 01.07.2016 и Рекомендациями Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

Животные, прошедшие карантин и включенные в основное и «спутниковое» исследование, были распределены в четыре группы для каждого направления – контрольную и три опытные. В основном исследовании контрольная группа содержала 8 крыс-самцов, в опытных группах, подвергавшихся воздействию токсикантов, было по 15 животных в каждой.

Для моделирования отдаленных последствий острых отравлений нейротропными токсикантами были выбраны:

– токсикант № 1 – фенилкарбамат; вводился однократно внутрибрюшинно в дозе 1,6 мг/кг в виде 0,1 % водного раствора;

– токсикант № 2 – органический растворитель метанол; вводился однократно внутривенного в дозе 11,5 г/кг в виде 75 % водного раствора;

– токсикант № 3 – органическая соль тяжелого металла – ацетата свинца; вводился однократно вну-

трибрюшинно в дозе 300 мг/кг в виде 4,8 % водного раствора.

Дозы токсикантов, соответствующие среднелетальной дозе для выбранного пути введения, были подобраны в ходе предварительного исследования. Приготовление растворов осуществлялось в день введения. Введение токсикантов считали первым днем исследования.

Животные контрольной группы не подвергались токсическому действию, им внутрибрюшинно вводили воду для инъекций.

Ежедневно оценивались показатели выживаемости, осуществлялся визуальный осмотр, ежесуточно – потребление корма и воды, масса тела лабораторных животных.

На 2, 15, 29-й день в поведенческих тестах («Открытое поле» [16, 17], «Вращающийся стержень» [18], «Сила хвата» [17], «Исследование сенсорных реакций» по методике TSE Startle Response System [19]) оценивались когнитивные функции, локомоторные и сенсорные реакции, на 6–7-й и 28–29-й день для этих же целей использовался метод «Оценка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ)» [20]. На 2, 15, 29-й день проводилось изучение двигательной активности и выносливости, на 30-й и 34-й день оценивалась устойчивость к гипоксии и гипертермии.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов показывает, что среди различных методик динамического исследования статистически достоверных изменений, фиксируемых у выживших после острого тяжелого отравления животных через 28 дней, имеются показатели, интерпретация которых может свидетельствовать о формировании отдаленных последствий перенесенной интоксикации (табл. 1).

Динамика других изученных показателей не позволяет прогнозировать их высокую информативность в оценке отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами.

Для определения критериев отнесения результатов исследований к какому-либо типу состояний организма был использован подход на основе S-образного шкалирования, использующего свойства

Т а б л и ц а 1

Показатели, которые могут характеризовать возникновение отдаленных последствий острых отравлений

Методика	Показатель	Уровень, изменение	Интерпретация изменений	Уровень значимости
Потребление воды	Суточное потребление, мл/сут	Низкий	Нарушение водно-пищевого поведения, эндокринного баланса	0,05
УРПИ	Длительность пребывания в темной камере, с	Высокий	Нарушение воспроизведения условных рефлексов	0,05
Бег на тредбане	Длительность бега на скорости 43 м/мин	Отказ или крайне низкий	Нарушение координации движений, выносливости, мотивации	0,05
TSE Startle Response System	Длительность реакции на свет, мс	Высокая	Торможение полисинаптических цепей	0,004
	Амплитуда ответа на электроток	Низкая	Недостаточность (истощение) активационных влияний	0,003

нормального статистического распределения случайной величины². Технически это было реализовано путем построения экспериментальной кривой частотного распределения значений анализируемого показателя и кумулятивной кривой, точки перегиба которой и являются границами соответствующих нормированных (то есть приближенных к нормальному распределению) диапазонов. Результаты такого графического анализа представлены на рис. 1.

Границы диапазонов показателей, определенные графически по рис. 1, приведены в табл. 2.

Для формирования обучающей выборки были проанализированы результаты выполнения всеми 32 выжившими после острой тяжелой интоксикации животными. В случае отнесения какого-либо показателя по критериям табл. 2 к признакам отдаленных последствий острых интоксикаций, такое животное получало 1 балл (по показателям потребления

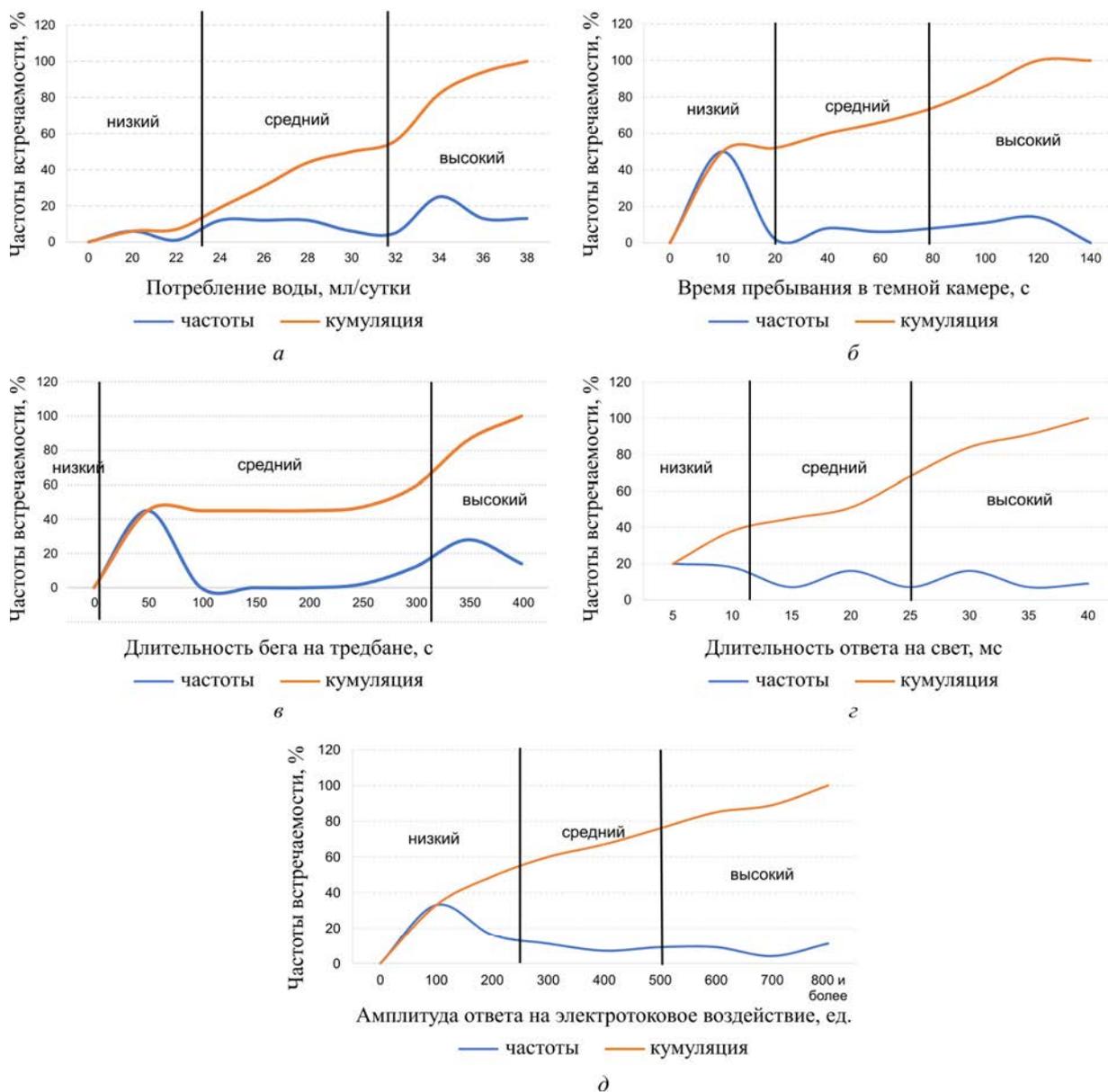


Рис. 1. Границы диапазонов уровней: а – потребления воды; б – времени пребывания в темной камере, тест УРПИ; в – длительности бега на тредбане, скорость ленты 43 м/мин; г – длительности ответной реакции на световой стимул (мс), тест TSE Startle Response System; д – амплитуды ответа на электротоковое воздействие (ед.), тест TSE Startle Response System

² Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / под ред. Н.Д. Буянтына, А.Н. Васильева, О.Л. Верстаковой, М.В. Журавлевой, В.К. Лепехина, Н.В. Коробова, В.А. Меркулова, С.Н. Орехова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

Таблица 2

Границы диапазонов показателей, потенциально способных дифференцировать возникновение отдаленных последствий острых отравлений

Показатель	Ед.	Диапазоны значений		
		низкий	средний	высокий
Потребление воды	мл/сут	24,0 и ниже*	24,1–34,0	34,1 и более
Пребывание в ТК, УРПИ	с	20,0 и менее	20,1–80,0	80,1 и более*
Длительность бега на тредбане, 43 м/мин	с	Невозможность бега*	46–350	351 и более
Длительность реакции на свет	мс	5,0 и менее	5,1–25,0	25,1 и более*
Амплитуда ответа на электрошоковое воздействие	ед.	200 и менее*	201–500	501 и более

Примечание: * – диапазоны, характеризующие формирование отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами.

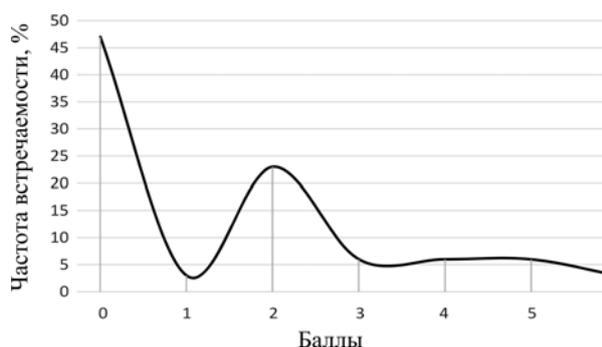


Рис. 2. Частота встречаемости суммарной балльной оценки выраженности признаков отдаленных последствий острой интоксикации у животных на 28-е сутки периода моделирования

воды, длительности нахождения в темной камере, бега на тредбане на высокой скорости) или 2 балла (длительность реакции на свет или амплитуды ответа на электрошоковое воздействие). Различия в количестве баллов были связаны с разным уровнем достоверности отличий по показателям от контроля. Сумма набранных животными баллов находилась в диапазоне 0–6, структура суммарных балльных оценок отражена на рис. 2.

Частотный анализ выявил три диапазона суммарных балльных оценок:

- 0–1 балл – признаки отдаленных последствий отсутствуют;
- 2 балла – начальные проявления отдаленных последствий или не оптимальное состояние ЦНС;
- 3–6 баллов – имеются признаки отдаленных последствий тяжелых острых отравлений, и их тяжесть пропорциональна балльной оценке.

Распределение типичных для разных токсикантов диапазонов суммарных оценок по указанным диапазонам представлено в табл. 3.

Как следует из данных табл. 3, в исследованные сроки формирования отдаленных последствий острых отравлений риски их развития существенно зависят от вида токсиканта: при применении фенилкарбамата отдаленные последствия не развиваются, при отравлении метанолом развиваются в 20 % случаев, при отравлении ацетатом свинца – развиваются у всех выживших животных, т.е. относительные риски равны 0, 0,2 и 1,0 соответственно.

Наличие в группе контрольных животных крыс с минимальными признаками нарушений функционального состояния ЦНС может свидетельствовать о неоднородности популяции животных в питомнике и необходимости в случае проведения нейротоксикологических и нейропсихофармакологических исследований добавлять в критерии включения специальную процедуру выявления проблемных животных с пограничной симптоматикой.

Таким образом, по результатам проведенного анализа нами были сформированы следующие обучающие выборки для последующего многомерного статистического анализа:

- группа 1 – без признаков отдаленных последствий острых отравлений (11 животных);
- группа 2 – с признаками отдаленных последствий острых отравлений (7 животных);
- группа 3 – группа для проверки правил мультипараметрической классификации (12 животных). Необходимость выделения этой группы связана с потребностью проверки полученных методами мультипараметрической статистики решающих правил классификации объектов по группам.

Таблица 3

Распределение отдаленных последствий тяжелых острых отравлений по группам нейротоксикантов (частота встречаемости, %)

Группа	Признаки отсутствуют	Неоптимальное состояние	Наличие признаков отдаленных последствий
Контроль, n = 8	75	25	0
Фенилкарбамат, n = 9	89	11	0
Метанол, n = 10	40	40	20
Ацетат свинца, n = 5	0	0	100

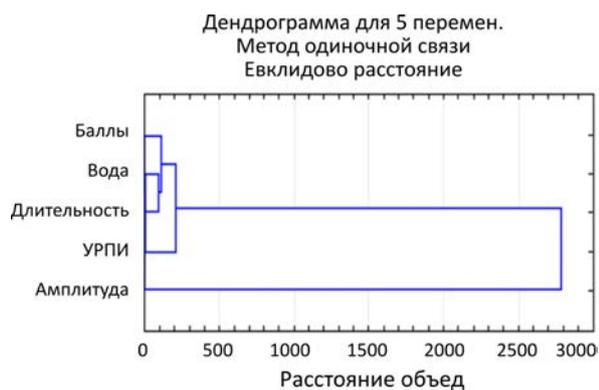


Рис. 3. Дендрограмма взаимосвязей показателей, характеризующих отдаленные последствия острых отравлений

Из пяти отобранных показателей для проведения мультипараметрического анализа мы были вынуждены исключить время бега на тредбане при скорости ленты 43 м/мин, так как он носил качественный характер – невозможность выполнения заданного теста. Остальные показатели носили количественный характер и могли быть включены в статистический анализ.

Кластерный анализ группировки показателей (рис. 3) продемонстрировал, что амплитуда ответа на электротокковое воздействие может рассматриваться как самостоятельный параметр прогнозирования отдаленных последствий острых отравлений, в то время как показатели потребления воды, длительности пребывания в закрытой камере в тесте

УРПИ и длительности реакции на световой стимул вместе с балльной оценкой признаков образуют новую переменную для оценки.

Методом главных компонент было показано, что в многомерном пространстве признаков выделяется два ортогональных фактора, факторные нагрузки которых представлены в табл. 4.

Выделенные главные компоненты суммарно охватывают 73 % вариативности анализируемых показателей, что является достаточным для статистически корректного описания биомедицинской модели. Исходя из полученных результатов, можно рассматривать результаты теста УРПИ как самостоятельный показатель, прямо не связанный с отдаленными последствиями острых отравлений и характеризующий самостоятельно интерпретируемые качества – сохранность условных реакций, связанных с когнитивными функциями.

Методом многомерного линейного регрессионного анализа были получены уравнения, характеризующие возможность получения балльных оценок выраженности проявлений отдаленных последствий. Их характеристика представлена в табл. 5. Пошаговый анализ показал, что оптимальным является 4-параметрическая регрессионная модель.

Так как в работе удалось сформировать четко разделенные группы с наличием и отсутствием признаков отдаленных последствий острых интоксикаций, то для решения задачи разработки решающих правил отнесения объектов к этим группам нами был выбран дискриминантный анализ.

Таблица 4

Факторные нагрузки главных компонент мультифакторного анализа показателей, характеризующих отдаленные последствия тяжелых острых отравлений

Показатель	Главная компонента 1	Главная компонента 2
Потребление воды	0,87	0,23
Длительность пребывания в закрытой камере, тест УРПИ	-0,08	0,93
Длительность ответной реакции на свет	-0,74	0,36
Амплитуда ответа на электротокковое воздействие	0,52	-0,36
Баллы отдаленных последствий	-0,884373	0,34
Доля в общей дисперсии	0,474	0,260

Таблица 5

Характеристика линейных регрессионных моделей расчета балльной оценки выраженности проявлений отдаленных последствий острых интоксикаций

Показатели	Уравнение	Оценка значимости
X_3 – длительность реакции на свет; X_4 – амплитуда ответа на электрический ток	$Y = 0,892X_3 - 0,43X_4 + 4,772$	$R^2 = 0,779$ $p = 0,00003$
X_1 – потребление воды; X_3 – длительность реакции на свет; X_4 – амплитуда ответа на электрический ток	$Y = -0,30X_1 + 0,425X_3 - 0,39X_4 + 4,02$	$R^2 = 0,83$ $p = 0,000002$
X_1 – потребление воды; X_2 – длительность пребывания в закрытой камере, тест УРПИ; X_3 – длительность реакции на свет; X_4 – амплитуда ответа на электрический ток	$Y = -0,34X_1 + 0,119X_2 + 0,333X_3 - 0,40X_4 + 4,772$	$R^2 = 0,841$ $p = 0,000007$

Информативность значимых показателей

Показатель	Интегральные показатели			
	<i>Se</i>	<i>Sp</i>	<i>Ac</i>	<i>I</i>
Потребление воды	0,33	1,00	0,63	0,71
Длительность пребывания в закрытой камере	0,27	0,93	0,56	0,65
Возможность бега на тредбане	0,67	0,87	0,72	0,76
Длительность реакции на свет	0,60	1,00	0,75	0,80
Амплитуда ответа на эл. ток	0,40	0,93	0,63	0,69
Критериальная оценка (сумма баллов)	0,47	1,00	0,92	0,83
Дискриминантная модель	1,00	1,00	0,94	0,98

Примечание: *Se* – селективность (чувствительность), *Sp* – специфичность, *Ac* – точность, *I* – информативная значимость.

При включении в модель пяти показателей, характеризующих отдаленные последствия острых отравлений, была получена формула, описывающая следующую линейную дискриминантную функцию (формула (1)):

$$\text{ЛДФ1} = 0,46X_1 - 0,66X_2 + 0,8X_3 - 1,12X_4 + 1,19X_5, \quad (1)$$

где X_1 – X_5 – Z-оценки значений показателей (потребления воды, длительности пребывания в закрытой камере, длительности ответной реакции на свет, амплитуды ответа на электротокое воздействие, баллов выраженности признаков) соответственно.

Если значение ЛДФ меньше 0, то объект относится в группу 1 (без признаков отдаленных последствий острых интоксикаций), если больше 0 – в группу с признаками отдаленных последствий острых интоксикаций. Значения ЛДФ в диапазоне (-0,1) – (+0,1) означают зону неразличимости, а объекты или выносятся в третью (пограничную) группу, или присоединяются к группе 1, так как не могут быть отнесены в группу с признаками отдаленных последствий острых интоксикаций.

Статистическая проверка значимости полученной дискриминантной модели показала ее высокую статистическую значимость (коэффициент детерминации $D = R^2 = 0,976, p < 10^{-7}$).

Значения Z(x)-оценок получают по формуле (2):

$$Z(x) = \frac{X - M}{\sigma}, \quad (2)$$

где Z(x)_i – Z-оценка величины X_i;

X_i – конкретное значение анализируемого показателя;

M – математическое ожидание (среднее значение по выборке);

σ – среднеквадратическое отклонение для показателя X.

В табл. 6 представлены результаты расчета интегральных показателей информативности для оценки выраженности отдаленных последствий острых отравлений, полученные при анализе ошибок классификации I и II рода (истинных и ложных положительных или отрицательных ответов), при признании референтными значений классификации по дискриминантным функциям.

Анализ данных табл. 6 позволяет заключить, что показатели, даже характеризующиеся высокой дифференцирующей способностью (специфичностью) в отношении отдельных проявлений отдаленных последствий острых отравлений, характеризуются недостаточной селективностью, точностью и информационной значимостью. Комплексная оценка экспериментальной модели на основе критериального подхода обеспечивает более высокую информационную значимость, чем показатели по отдельности. Однако наиболее приближенной к оптимальной системе выявления отдаленных последствий острых отравлений нейротропными токсикантами является дискриминантная модель.

Выводы. Таким образом, оценка информативности различных способов выявления отдаленных последствий острых интоксикаций показала, что отдельные показатели, выявляющие изменения функционального состояния, характеризуются относительно невысоким уровнем чувствительности и точности прогноза и более высокой специфичностью, что в целом не позволяет проводить выявление отдаленных последствий на их основе при изолированном анализе. В то же время критериальный подход с расчетом интегральной балльной оценки выраженности проявлений отдаленных последствий и применение линейных дискриминантных функций позволяют с высоким уровнем информационной значимости оценивать процесс их формирования в ходе биомоделирования.

Наиболее отчетливо разделение объектов исследования по критерию наличия или отсутствия отдаленных последствий острых отравлений осуществляется с помощью линейных дискриминантных функций, полученных на сформированных обучающих выборках методом дискриминантного анализа. Такой анализ позволил оценить риски развития отдаленных последствий в зависимости от химической природы токсиканта.

Финансирование. Экспериментальная часть исследования выполнена в рамках Государственного задания ФМБА России № 388-00071-24-00 (код темы 64.004.24.800).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Эквивалентные электрические модели биологических объектов / А.Л. Зуев, В.Ю. Мишланов, А.И. Судаков, Н.В. Шакиров, А.В. Фролов // Российский журнал биомеханики. – 2012. – Т. 16, № 1 (55). – С. 110–120.
2. Корнеев А.А., Рязанцев С.В., Вяземская Е.Э. Вычисление и интерпретация показателей информативности диагностических медицинских технологий // Медицинский совет. – 2019. – № 20. – С. 45–51. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-20-45-51
3. Рыжков С.И., Харченко С.А., Ласточкина К.С. Математические методы в медико-биологических исследованиях информационных систем // Вестник Воронежского института высоких технологий. – 2016. – Т. 19, № 4. – С. 40–43.
4. Григорьев С.Г., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В. Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 4. – С. 36–45. DOI: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-36-45
5. Меры информативности диагностических медицинских технологий в оториноларингологии: вычисление и интерпретация / А.А. Корнеев, С.В. Рязанцев, Е.Э. Вяземская, М.А. Будкова // Российская оториноларингология. – 2020. – Т. 19, № 1 (104). – С. 46–55. DOI: 10.18692/1810-4800-2020-1-46-55
6. Методология и практика анализа данных в медицине: монография. Т. II. Одномерные методы анализа данных / И.А. Левин, И.Б. Манухин, Ю.Н. Пономарева и [др.]. – Москва, Тель-Авив: АПЛИТ, 2010. – 201 с.
7. Мудров В.А. Алгоритм применения ROC-анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS // Забайкальский медицинский вестник. – 2021. – № 1. – С. 148–153. DOI: 10.52485/19986173_2021_1_148
8. Мудров В.А. Алгоритмы использования кластерного анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS // Забайкальский медицинский вестник. – 2020. – № 4. – С. 215–221. DOI: 10.52485/19986173_2020_4_215
9. Корнеев А.А., Фанта И.В., Вяземская Е.Э. Оценка динамики симптомов болезни методами анализа выживаемости // Российская оториноларингология. – 2019. – Т. 18, № 4 (101). – С. 8–14. DOI: 10.18692/1810-4800-2019-4-8-14
10. Обзор требований к исследованиям биоэквивалентности генерических лекарственных средств. Требования ЕМА / А.Н. Коношкова, А.Ю. Савченко, К.С. Давыдова, Г.В. Раменская, В.Г. Кукус // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2011. – № 6. – С. 74–77.
11. Идентифицируемость математических моделей медицинской биологии / С.И. Кабанихин, Д.А. Воронов, А.А. Гродзь, О. И. Криворотько // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 6. – С. 738–744. DOI: 10.18699/VJ15.097
12. Оценка информативности нового диагностического метода «ФП Тест» для определения степени активности гепатита у пациентов с хронической HCV-инфекцией / В.В. Цветков, И.И. Токин, А.Ю. Ковеленов, А.С. Позднякова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – Т. 12, № 1. – С. 91–96. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-91-96
13. Исследование информативности различных опухолевых биомаркёров / М.А. Борисова, Е.А. Пересыпкина, С.Н. Гонтарев, А.П. Яковлев // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 826–831.
14. Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении / О.И. Авдеева, М.Н. Макарова, А.В. Калатанова, М.А. Ковалева // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 1. – С. 4–11. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-01
15. Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Шустов Е.Б. Методика оценки системы детоксикации ксенобиотиков у лабораторных животных // Биомедицина. – 2017. – № 3. – С. 71–81.
16. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «Открытое поле» / А.А. Пермяков, Е.В. Елисеева, А.Д. Юдицкий, Л.С. Исакова // Вестник Удмуртского университета. Серия: Биология. Науки о Земле. – 2013. – Вып. 3. – С. 83–90.
17. Исследование сочетанного действия тиопентала натрия и нарушения циркадианных ритмов на поведенческие реакции лабораторных животных / Т.А. Кострова, Д.С. Лисицкий, Е.Г. Батоцыренова, В.А. Кашуро, Е.А. Золотоверхая, К.М. Щепеткова, Е.Х. Жилиева, М.А. Зайцева [и др.] // Medline.ru. – 2018. – Т. 19. – С. 167–181.
18. Assessing forelimb function after unilateral cervical SCI using novel tasks: limb step-alternation, postural instability and pasta handling / Z.Z. Khaing, S.A. Geissler, T. Schallert, C.E. Schmidt // J. Vis. Exp. – 2013. – № 79. – P. e50955. DOI: 10.3791/50955
19. CB1 receptors in corticotropin-releasing factor neurons selectively control the acoustic startle response in male mice / J. Ruat, A. Hartmann, D.E. Heinz, P. Nemcova, R. Stoffel, J.M. Deussing, A. Chen, C.T. Wotjak // Genes Brain Behav. – 2021. – Vol. 20, № 8. – P. e12775. DOI: 10.1111/gbb.12775
20. Влияние тиопентала натрия на сохранение условного рефлекса пассивного избегания у крыс с различной возбудимостью нервной системы / А.В. Швецов, А.И. Вайдо, Н.А. Дюжикова, А.В. Бельская, М.В. Михайлова, Е.Б. Скомоорова, Е.Г. Батоцыренова // Токсикологический вестник. – 2018. – № 1 (148). – С. 8–11.

Определение информативности методик исследования вероятности проявления отдаленных последствий острых интоксикаций нейротропными токсикантами в эксперименте / Е.Б. Шустов, М.В. Мельникова, П.К. Потапов, В.А. Башарин, А.В. Бельская, А.С. Мелехова, А.В. Ладочкина // Анализ риска здоровью. – 2024. – № 4. – С. 113–122. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.10

UDC 616-099+616.24-005.98
DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.10.eng



Research article

DETERMINING AN INFORMATIVE VALUE OF METHODS FOR RESEARCHING MANIFESTATIONS OF LONG-TERM EFFECTS PRODUCED BY ACUTE INTOXICATION WITH NEUROTROPIC TOXICANTS IN AN EXPERIMENT

**E.B. Shustov¹, M.V. Melnikova¹, P.K. Potapov^{1,2}, V.A. Basharin²,
A.V. Belskaya¹, A.S. Melekhova¹, A.V. Ladochkina¹**

¹Golikov Research Clinical Center of Toxicology, 1 Bekhtereva St., Saint Petersburg, 192019, Russian Federation

²Military Medical Academy named after S.M. Kirov, 6 Akademika Lebedeva St., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

Information characteristics of models are rarely determined in biomedical research, which is largely due to their assessments not being mandatory, poor standardization of biomedical research, and wide variability of methods employed to model and assess a condition of animals. Nevertheless, stricter requirements to implementation of GLP standards in preclinical studies lead to an increase in importance of evaluating information indicators in toxicological and pharmacological studies.

An experimental study was accomplished on modeling long-term consequences of acute neurotoxicant poisoning. In this experiment, animals were intoxicated with model neurotoxicants. By the end of 4th week, 100 % of laboratory animals intoxicated with lead acetate and 20 % of laboratory animals intoxicated with methanol were found to have signs of long-term consequences of acute poisoning. These signs were manifested as components of psycho-organic and asthenic syndromes including impaired responses to light and an electric current stimulus, inability to perform intense physical activity in the treadmill running test, a decrease in ability to reproduce skills of passive pain avoidance. These changes in the functional state of animals were statistically significant.

The study revealed that indicators, even those characterized by high differentiating ability (specificity) in relation to individual manifestations of long-term consequences of acute poisoning, were characterized with insufficient selectivity, accuracy and informational significance. A comprehensive assessment of the experimental model based on a criteria-based approach provides higher informational significance than the indicators taken separately. However, the discriminant model is the closest to the optimal system for detecting long-term consequences of acute poisoning with neurotropic toxicants.

Keywords: biological modeling, intoxication, poisoning, neurotoxicant, long-term effects, lead acetate, informativeness, multifactorial analysis.

References

1. Zuev A.L., Mishlanov V.Yu., Sudakov A.I., Shakirov N.V., Frolov A.V. Equivalent electrical models of biological objects. *Rossiiskii zhurnal biomekhaniki*, 2012, vol. 16, no. 1 (55), pp. 110–120 (in Russian).
2. Korneenkov A.A., Ryazantsev S.V., Vyazemskaya E.E. Symptom dynamics assessment of the disease by methods of survival analysis. *Meditinskii sovet*, 2019, no. 20, pp. 45–51. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-20-45-51 (in Russian).

© Shustov E.B., Melnikova M.V., Potapov P.K., Basharin V.A., Belskaya A.V., Melekhova A.S., Ladochkina A.V., 2024
Evgeny B. Shustov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher (e-mail: shustov-msk@mail.ru; tel.: +7 (921) 952-27-73; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>).

Margarita V. Melnikova – Researcher (e-mail: melnikova.m.v@toxicology.ru; tel.: +7 (906) 249-78-91; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2996-5151>).

Petr K. Potapov – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher; doctoral student (e-mail: forwardspb@mail.ru; tel.: +7 (952) 283-78-78; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4602-4468>).

Vadim A. Basharin – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Military Sciences Toxicology and Medical Protection (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8548-6836>).

Alisa V. Belskaya – Researcher (e-mail: belskaya.a.v@toxicology.ru; tel.: +7 (962) 699-00-96; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9343-4144>).

Alexandra S. Melekhova – Senior Researcher (e-mail: melekhova.a.s@toxicology.ru; tel.: +7 (911) 786-40-27; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1803-3815>).

Anastasia V. Ladochkina – Junior Researcher (tel.: +7 (921) 794-35-08; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7533-7698>).

3. Ryzhkov S.I., Harchenko S.A., Lastochkina K.S. The mathematical methods in biomedical research information systems. *Vestnik Voronezhskogo instituta vysokikh tekhnologii*, 2016, vol. 19, no. 4, pp. 40–43 (in Russian).
4. Grigoryev S.G., Lobzin Yu.V., Skripchenko N.V. The role and place of logistic regression and ROC analysis in solving medical diagnostic task. *Zhurnal infektologii*, 2016, vol. 8, no. 4, pp. 36–45. DOI: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-36-45 (in Russian).
5. Korneenkov A.A., Ryazantsev S.V., Vyazemskaya E.E., Budkovaya M.A. The measures of informativeness of diagnostic medical technologies in otorhinolaryngology: calculation and interpretation. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*, 2020, vol. 19, no. 1 (104), pp. 46–55. DOI: 10.18692/1810-4800-2020-1-46-55 (in Russian).
6. Levin I.A., Manukhin I.B., Ponomareva Yu.N. [et al.]. Metodologiya i praktika analiza dannykh v meditsine: monografiya. Tom II. Odnomernye metody analiza dannykh [Methodology and practice of data analysis in medicine: monograph. Volume II. One-dimensional methods of data analysis]. Moscow, Tel Aviv, APLIT Publ., 2010, 201 p. (in Russian).
7. Mudrov V.A. ROC curve analysis algorithm in biomedical research using SPSS software package. *Zabaikal'skii meditsinskii vestnik*, 2021, no. 1, pp. 148–153. DOI: 10.52485/19986173_2021_1_148 (in Russian).
8. Mudrov V.A. Cluster analysis algorithms in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaikal'skii meditsinskii vestnik*, 2020, no. 4, pp. 215–221. DOI: 10.52485/19986173_2020_4_215 (in Russian).
9. Korneenkov A.A., Fanta I.V., Vyazemskaya E.E. The assessment of disease symptom dynamics using survival analysis methods. *Rossiiskaya otorinolaringologiya*, 2019, vol. 18, no. 4 (101), pp. 8–14. DOI: 10.18692/1810-4800-2019-4-8-14 (in Russian).
10. Konyushkova A.N., Savchenko A.Yu., Davydova K.S., Ramenskaya G.V., Kukes V.G. Requirements to generic bioequivalence test. EMA requirements. *Remedium. Zhurnal o rossiiskom rynke lekarstv i meditsinskoj tekhnike*, 2011, no. 7, pp. 74–77 (in Russian).
11. Kabanikhin S.I., Voronov D.A., Grodz A.A., Krivorotko O.I. Identifiability of mathematical models in medical biology. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii*, 2015, vol. 19, no. 6, pp. 738–744. DOI: 10.18699/VJ15.097 (in Russian).
12. Tsvetkov V.V., Tokin I.I., Kovelonov A.Yu., Pozdnjakova S.A. Evaluation of a new diagnostic method «FP Test» to determine the degree of hepatitis activity in patients with chronic HCV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii*, 2020, vol. 12, no. 1, pp. 91–96. DOI: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-91-96 (in Russian).
13. Borisova M.A., Peresipkina E.A., Gontarev S.N., Yakovlev A.P. Research informativeness of various tumoral biomarkers. *Sistemnyi analiz i upravlenie v biomeditsinskikh sistemakh*, 2011, vol. 10, no. 4, pp. 826–831 (in Russian).
14. Avdeeva O.I., Makarova M.N., Kalatanova A.V., Kovaleva M.A. Bioethical and economic aspects in the basis of a choice of a method of studying of toxicity of medical products at single introduction. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*, 2018, no. 1, pp. 4–11. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-01 (in Russian).
15. Kapanadze G.D., Revyakin A.O., Shustov E.B. Method for evaluating the xenobiotic detoxification system in laboratory animals. *Biomeditsina*, 2017, no. 3, pp. 71–81 (in Russian).
16. Permyakov A.A., Eliseeva E.V., Yuditsky A.D., Isakova L.S. Behavioral reactions response in experimental animals with different prognostic stress resistance in the «open field test». *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya «Biologiya. Nauki o Zemle»*, 2013, iss. 3, pp. 83–90 (in Russian).
17. Kostrova T.A., Lisitsky D.S., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Zolotoverkhaya E.A., Shchepetkova K.M., Zhilyaeva E.H., Zaitseva M.A. [et al.]. Investigation of the consistent action of thiopental sodium the infringement of circadian rhythms on behavioral reactions of laboratory animals. *Medline.ru*, 2018, vol. 19, pp. 167–181 (in Russian).
18. Khaing Z.Z., Geissler S.A., Schallert T., Schmidt C.E. Assessing forelimb function after unilateral cervical SCI using novel tasks: limb step-alternation, postural instability and pasta handling. *J. Vis. Exp.*, 2013, no. 79, pp. e50955. DOI: 10.3791/50955
19. Ruat J., Hartmann A., Heinz D.E., Nemcova P., Stoffel R., Deussing J.M., Chen A., Wotjak C.T. CB1 receptors in corticotropin-releasing factor neurons selectively control the acoustic startle response in male mice. *Genes Brain Behav.*, 2021, vol. 20, no. 8, pp. e12775. DOI: 10.1111/gbb.12775
20. Shvetsov A.V., Vaido A.I., Dyuzhikova N.A., Belskaya A.V., Mikhailova M.V., Skomorokhova E.B., Batotsyrenova E.G. Influence of sodium thiopental on conservation of conditional reflex of passive avoidance in rats with different nervous system excitability. *Toksikologicheskii vestnik*, 2018, no. 1 (148), pp. 8–11 (in Russian).

Shustov E.B., Melnikova M.V., Potapov P.K., Basharin V.A., Belskaya A.V., Melekhova A.S., Ladochkina A.V. Determining an informative value of methods for researching manifestations of long-term effects produced by acute intoxication with neurotropic toxicants in an experiment. Health Risk Analysis, 2024, no. 4, pp. 113–122. DOI: 10.21668/health.risk/2024.4.10.eng

Получена: 07.10.2024

Одобрена: 21.10.2024

Принята к публикации: 17.12.2024