

УДК 615.9:587.08

НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ НЕЙРОИНТОКСИКАЦИЯХ

Соседова Л.М.

Ангарский филиал УРАМН Восточно-Сибирского научного центра экологии человека Сибирского отделения РАМН – Научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека, г. Ангарск, Россия

Ключевые слова: нейротоксины, биомоделирование

Моделирование патологических процессов и различных заболеваний является мощнейшим оружием ученых, позволяющее выявлять их патогенетическую структуру и механизмы формирования. До настоящего времени, по-прежнему, актуальным остается высказывание одного из основоположников гигиенической науки Н.С.Правдина: «Фундаментом наших исследований должна быть триада: гигиена, клиника и связующий их эксперимент» [6]. Несмотря на невозможность полного воспроизводства клинических проявлений патологии центральной нервной системы (ЦНС) человека на лабораторных животных, модели нейропатологических синдромов, позволяют изучать патогенетические механизмы различных нейроинтоксикаций с учетом видовых и поведенческих особенностей экспериментальных животных. При этом одним из основных принципов методологических подходов к экспериментальному моделированию нейроинтоксикаций является адекватность создаваемой модели патологии человека к задачам исследований, допустимость переноса экспериментальных данных с модели на человека, в совокупности с информативностью и доступностью критериев и методов оценки патологического процесса в ЦНС лабораторных животных.

Критериями правомочности и надежности условий моделирования являются следующие основные положения: пространственное сходство или общность морфо-функциональных характеристик органов и систем у прототипа

человека и его биологической модели; единство или сходство метаболических, нейрорегуляторных, двигательных, эндокринных и экзокринных функций; единство или максимальное сходство эффектов критических систем и органов по их реагированию на выбранное исследуемое воздействие; сопоставимость констант или иных параметров, качественно оцениваемых и математически описываемых [3].

При экспериментальном моделировании патологических процессов в ЦНС общепринятым является использование в качестве тест-объектов белых крыс, поскольку молекулярная и клеточная биология их нервных клеток имеет высокую степень гомологии с человеком, а имбридинг мелких животных гарантирует относительную гомогенность особей [1,8]. Важным преимуществом грызунов являются их относительно низкая себестоимость и возможность проведения экспериментов на достаточно большом количестве животных, что значительно повышает воспроизводимость и статистическую значимость полученных результатов.

Анализ ответных реакций со стороны нервной системы на то или иное воздействие у человека и белых крыс свидетельствует о максимальном сходстве и сопоставимости параметров, качественно оцениваемых и математически описываемых: астеническое состояние соответствует угнетению общей двигательной активности; неврозоподобные нарушения тревожного, агрессивного и депрессивного характера - повышенной

тревожности, негативной эмоциональности и зоосоциальной агрессивности у белых крыс; снижение мнестико - интеллектуальное и в сфере мотиваций, нарушение памяти – изменению времени закрепления условно-рефлекторных связей, угнетению исследовательского поведения; нарушение мышечного тонуса, гиперкинез – изменению времени удержания на вращающемся стержне. При оценке нарушений биоэлектрической активности головного мозга и реакций на проведение стимуляционных проб оцениваемые параметры распределения основных ритмов, значений амплитуд, мощностей ритмов, латентности ответа у человека и белых крыс также сопоставимы.

В связи с вышесказанным, мы считаем, что экстраполяция экспериментальных данных, полученных при обследовании функционального состояния ЦНС белых крыс, на человека при моделировании нейроинтоксикации достаточно обоснована и вполне допустима. При этом соблюдается основное условие моделирования - принцип подобия экспериментальной модели оригиналу, ответную реакцию которого на воздействие токсиканта она должна воспроизвести.

Существующие модели нейроинтоксикаций посвящены, как правило, созданию в ЦНС острого патологического процесса [2,7]. Вместе с тем в клинической практике в отдаленном периоде, в том числе и после прекращения экспозиции токсикантов, нередко наблюдается прогрессирование нервно-психических нарушений [4,5]. Тогда как модели отдаленных нейроинтоксикаций в постконтактном периоде в настоящее время отсутствуют. При этом мы исходили из средних сроков развития отдаленных нейротоксических поражений у человека (8-9 лет), что сопоставимо, примерно, с 8-9 неделями жизни белых крыс.

Моделирование нейротоксического поражения ЦНС экспериментальных животных проводилось нами при воз-

действии химических факторов окружающей среды (пары металлической ртути, сулема, винилхлорид, комплекс токсических веществ, содержащий оксид углерода, бензпирен, формальдегид, винилхлорид, оксид азота) путем ингаляционного или парентерального поступления в организм. Основной целью проведенных экспериментов являлось изучение общих закономерностей и отличительных особенностей ответной реакции организма в отдаленном постконтактном периоде. Следует заметить, что при моделировании нейроинтоксикацией, в первую очередь, мы подразумевали моделирование токсической энцефалопатии.

Для объективной визуализации нейротоксического эффекта воздействия различных ксенобиотиков, нами разработан и адаптирован комплекс высокочувствительных методов, позволяющий оценить различные звенья патологического процесса в центральном и периферическом отделах нервной системы: тесты - «открытое поле», «крестообразный лабиринт», «чужак-резидент», длительность удержания на вращающемся стержне, выработка условного пищедобывательного рефлекса дифференцировки освещенности, электроэнцефалография (ЭЭГ) с фотостимуляцией и вызванными потенциалами, электронейромиография (ЭНМГ) периферических нервов и мышц, обзорная микроскопия, морфометрия и иммуногистохимия нервной ткани с определением антител к нейронспецифической енолазе, глиофибрилярному кислому протеину, белку S-100, синаптофизину, электронная микроскопия. Следует сразу оговориться, что не все методы, из приведенных выше, были одинаково информативны, порой некоторые из них имели противоположную направленность. В связи с чем, нами предложены критерии верификации токсической энцефалопатии у белых крыс в отдаленном периоде.

Анализ полученных результатов позволил выработать единые методичес-

кие подходы к моделированию нейроинтоксикаций на белых крысах и подтвердить эффективность выбранных критериев верификации модели. Предшествовать выполнению экспериментального исследования, должна та или иная проблемная ситуация, решению вопросов которой и должно быть посвящено моделирование эффектов нейротоксичности. При создании новой модели первое, с чем сталкивается экспериментатор, это разработка программы экспериментального моделирования, включающей определение объектов исследования, способов и сроков выполнения затрат, периодов обследования и методов оценки нарушений функционирования ЦНС. Учитывая, что нейротоксиканты чаще всего воздействует на организм человека в виде паров или газов, то проведение экспериментального моделирования наиболее целесообразно осуществлять в газовых камерах при динамической подаче токсиканта из баллона через систему редукторов и смесителей. В отдельных случаях возможно парентеральное введение изучаемого нейротоксиканта. Воздействие на белых крыс должно быть длительным, не менее 7-8 недель, выбранные дозы должны обеспечивать формирование стойких отдаленных эффектов нейроинтоксикаций. Учитывая, что информативность и вектор изменений тех или иных критериев может весьма существенно меняться в различные сроки с момента создания модели, обследование лабораторных животных проводят дважды в динамике постконтактного периода: сразу после окончания ингаляционного воздействия нейротоксикантом и через 2 месяца.

Проведенными многолетними экспериментальными исследованиями установлено, что моделирование нейротоксического процесса у белых крыс при воздействии различных нейротоксикантов имело как общие закономерности, так и свои отличительные особенности, обусловленные специфическими свой-

ствами изучаемых токсикантов. Во всех случаях у экспериментальных животных наблюдали значительное изменение видоспецифического поведения, характерного для грызунов, стойкое нарушение нормального соотношения между процессами возбуждения и торможения в коре головного мозга. При интоксикации парами металлической ртути, сулемы и комплекса токсических веществ первоначально преобладали процессы возбуждения с последующим динамическим развитием процессов торможения, в то время как длительное воздействие винилхлоридом вызывало нарушение тормозного компонента с преобладанием патологически выраженного возбуждающего компонента. При воздействии, как препаратов ртути, так и винилхлорида в показателях биоэлектрической активности головного мозга преобладала патологическая медленноволновая активность, выявлялись нарушения корково-подкорковых взаимосвязей, проявляющиеся в изменении коркового зрительного ответа в виде отставания по времени реакции коры, увеличении латентности P200 и длительности всего ответа. Во всех случаях по данным электроэнцефалографического исследования выявлялись достоверные изменения состояния нервного ствола, соответствующие аксональному типу поражения. Патоморфологическая верификация поражения нервной ткани изучаемыми нейротоксическими соединениями не имела существенных качественных различий и характеризовалась однотипными структурно-морфологическими повреждениями. Периваскулярный и перичеселлюлярный отек, дистрофия нейронов коры головного мозга и клеток Пуркинью; структурное нарушение слоев сенсомоторной коры и гиппокампа, нарушение метаболической активности нервных клеток имели неспецифический характер и были обусловлены гипоксией, нарушениями церебральной гемодинамики, внутриклеточного метаболизма и др.. Обращало на себя внимание наличие

выраженного спонгиоза при воздействии винилхлорида, нарушение миелиновой оболочки аксонов и гибели клеток в отдельных случаях по апоптозному типу при воздействии препаратами неорганической ртути и комплексом токсических веществ. Морфометрический анализ показал снижение площади митохондрий и возрастание площади ядер нейронов коры; сокращение плотности расположения нейронов коры, клеток Пуркинье на единицу площади; пролиферацию глиальных элементов. Высокоинформативная иммуногистохимическая идентификация изменений ткани головного мозга выявила снижение экспрессии кислого глиального белка, S-100 и повышение нейронспецифической енолазы.

Выявленные морфофункциональные нарушения: снижение количества нейронов коры головного мозга и клеток Пуркинье на единицу площади, сохраняющийся процесс дистрофии нейронов, имевшие место и в отдаленном периоде нарушения ультраструктуры нейронов и экспрессии нейроспецифических белков свидетельствовали, в совокупности, о нарастании нейродегенеративных процессов в нервной ткани головного мозга в динамике постконтактного периода.

На основании определения наиболее информативных показателей, нами предложены критерии достоверности формирования токсической энцефалопатии у белых крыс в отдаленном периоде:

- эмоционально-негативное состояние (по длительности актов «груминг», «сидит», «движение на месте»)
- возрастание агрессивности зоосоциального поведения (возрастание количества животных, атакующих чужака)
- увеличение площади ядер, распад и снижение количества митохондрий нейронов
- нарушение цитоархитектоники сло-

ев коры, мозжечка

- по результатам ЭЭГ: нарастание медленноволновой активности, снижение амплитуды основных ритмов на фотостимуляцию, увеличение латентности и снижение амплитуды P200
- по результатам ЭНМГ: уменьшение амплитуды М-ответа и площади вовлечения

В целом анализ результатов биомоделирования нейроинтоксикацией показал следующее:

- независимо от природы воздействующих химических соединений, а также путей поступления в организм, структурно-морфологические и функциональные нарушения нервной системы, формирующиеся при воздействии нейротоксикантов, не имеют специфического характера
- как правило, нарушения в организме лабораторных животных с экспериментальной токсической энцефалопатией носят стойкий необратимый характер и прогрессируют в динамике постконтактного периода

Таким образом, моделирование нейроинтоксикаций при воздействии нейротропных факторов окружающей среды, отражая существенные стороны патогенеза, позволяет исследовать и обобщить представления о механизмах и закономерностях формирования патологии ЦНС, использовать экспериментальные модели для доклинического испытания новых лекарственных препаратов, и средств реабилитации.

Литература

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая школа, 1991. – 390с.
2. Горбунова Н.Б., Лукашевич В.С., Калюнов В.Н. Эпидермальный фактор роста в сыворотке крови и мозге крыс при некоторых видах токсичес-

- ких энцефалопатий//Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности, Под ред. В.Н. Гурина, В.А. Кульчицкого, В.Н. Никанорова, - Минск: Полибег, - 1999. - 370 с.
3. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. - М.: Изд-во ВПК, 2004. - 608 с.
 4. Катаманова Е.В., Колесов В.Г., Андреева О.К., Шевченко О.И. Особенности токсической энцефалопатии при хронической ртутной интоксикации и в отдаленном периоде воздействия комплекса токсических веществ у пожарных// Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2004. - № 4. - С. 68 - 71.
 5. Колесов В.Г., Мещерягин В.А., Лахман О.Л., Шевченко О.И. Психопатологические проявления отдаленного периода профессиональных нейротоксикаций // Журнал неврологии и психиатрии. - 2005. - № 1. - С. 25-29.
 6. Корбакова А.И. Токсикологические исследования и их роль в оздоровлении условий труда и профилактике профзаболеваемости химической этиологии//Гиг. труда и проф.забол.- 1991.-№6.-С.1-4.
 7. Суслов Н.И. Патогенетическое обоснование психофармакологических эффектов препаратов природного происхождения: Автореферат дис. докт.мед.наук.-Томск, 1995.
 8. Чехонин В.П. [и др.] Мониторинг неврологического дефицита и нарушений высшей нервной деятельности у крыс с фокальной ишемией головного мозга//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2003. - Т. 135. - № 6. - С. 629 - 633.

Резюме

НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ ОСНОВИ БІОМОДЕЛЮВАННЯ ПРИ НЕЙРОІНТОКСИКАЦІЯХ

Соседова Л.М.

У роботі показано, що моделювання нейротоксикацій при дії нейротропних чинників навколишнього середовища, відображаючи істотні сторони патогенезу, дозволяє досліджувати і узагальнювати уявлення про механізми і закономірності формування патології ЦНС, використовувати експериментальні моделі для доклінічного випробування нових лікарських препаратів і засобів реабілітації.

Ключові слова: нейротоксини, біомоделювання

Summary

SCIENTIFICALLY-METHODICAL BASES OF BIOMODELLING AT NEUROINTOXICATIONS

Sosedova L.M.

It is shown in the article, that modelling of neurointoxications at influence of neurotropic factors of environment, reflecting the essential sides of a pathogenesis, allows to investigate and generalise conceptions about mechanisms and laws of a central nervous system pathology formation, to use experimental models for pre-clinical test of new medical products and rehabilitation means.

Keywords: neurointoxicants, biodesign

*Впервые поступила в редакцию 09.07.2010 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*