

УДК 615.099

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ КАК ОСНОВА АНАЛИЗА МНОГОФАКТОРНЫХ ХИМИЧЕСКИХ РИСКОВ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ

Б.А. Кацнельсон¹, А.Н. Вараксин²,
В.Г. Панов², Л.И. Привалова¹,
И.А. Минигалиева¹, Е.П. Киреева¹

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский
научный центр профилактики и охраны
здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора, 620014,

г. Екатеринбург, Российская Федерация

²ФБУН Институт промышленной экологии
УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург,
Российская Федерация

В статье критически рассматриваются некоторые постулаты теории и математического моделирования комбинированного токсического действия и предлагается дальнейшее их развитие. С этой целью были проанализированы результаты экспериментов на крысах, подвергавшихся повторным внутрибрюшинным введениям нескольких бинарных и одной трёхфакторной комбинации химических веществ, главным образом, солей токсичных металлов или металлосодержащих наночастиц. Интоксикации количественно характеризовались десятками функциональных, биохимических и морфометрических показателей. Для описания комбинированной токсичности мы опирались как на описательную статистику результатов, рассматриваемую с позиций обычной логики, так и на две математические модели, основанные на дисперсионном анализе (ANOVA) и на математической теории поверхности отклика, которые соотносятся с широко признанными парадигмами теории комбинированной токсичности: соответственно, аддитивности эффектов и аддитивности доз. Мы пришли к заключению, что названные парадигмы фактически взаимозаменяемы и должны бы рассматриваться скорее как разные методы моделирования комбинированной токсичности, чем как отражение фундаментально различающихся процессов. Мы отдаём предпочтение регрессионному построению поверхности отклика с учетом конкретного плана эксперимента, поскольку она инвариантна по отношению к этим парадигмам.

В рамках математической модели существуют не только три традиционно обозначаемых типа комбинированной токсичности (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность), но большое число вариантов её в зависимости от рассматриваемого эффекта, его уровня, а также от уровня доз и их соотношения. Особое внимание уделено моделированию противоположно направленных эффектов токсических веществ. Подчеркивается целесообразность выделения основного (определяющего) типа комбинированной токсичности и предложены критерии его выбора.

Для характеристики трёхфакторной токсичности был предложен новый риск-ориентированный подход, сущность которого составляет классификация эффектов по признаку того, остаётся ли тип бинарной комбинированной токсичности по сути тем же самым или становится либо более, либо менее неблагоприятным, когда анализируется на фоне действия третьего токсичного вещества.

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, bkaznelson@etel.ru

Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anatoliy Nikolayevich), д. ф.-м.н. проф, главный научный сотрудник лаборатории математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация, varaksin@esko.uran.ru

Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich), к. ф.-м. н., зав. лабораторией математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация, rapov@esko.uran.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), д.м.н., профессор, заведующая лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, privaloval@yandex.ru

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ilzira-minigalieva@yandex.ru

Киреева Екатерина Петровна (Kireyeva Ekaterina Petrovna), к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация, katerinakir@yandex.ru

Вкратце обсуждено значение вышеописанных заключений в рамках системы анализа и управления рисками для здоровья.

Ключевые слова: *комбинированная токсичность, анализ риска, изоболограммы.*

Введение. Однофакторные токсические экспозиции являются (за пределами предмета судебной токсикологии) скорее исключением, в то время как многофакторные – правилом. Это обуславливает актуальность оценки суммарных химических рисков для здоровья человека, научной основой, которой должна являться адекватная характеристика типа комбинированной токсичности (КТ). Проблема эта, несмотря на опубликованное на протяжении десятков лет большое число работ, ей посвящённых, далека не только от разрешения, но даже от единообразного понимания.

Необходимо отметить, что подавляющее число этих исследований посвящено изучению комбинаций двух и только малое – трёх или большего числа веществ, а современный понятийный аппарат в этой области реально применим только к бинарной КТ. Как мы покажем ниже, это может быть объяснено тем, что с увеличением числа веществ, действующих в комбинации, крайне усложняется не только задача экспериментального и математического моделирования и оценки КТ, но и её однозначная характеристика тем или иным термином, обозначающим тип КТ. Эта важная ограниченность располагаемой фактической базы и теории КТ может рассматриваться не только как объективно обусловленная, но и как вполне допустимая, поскольку оценка типа действия на организм даже только тех или иных пар веществ, входящих в реальную многофакторную комбинацию, является несомненным шагом вперёд от изолированной оценки действия каждого из них. К тому же, в такой реальной комбинации из большого числа факторов нередко может быть выделено два-три приоритетных, ориентируясь на класс их опасности и количественное преобладание в комбинации.

Существенно более важным недостатком изученности проблемы КТ является то, что большинство исследований проведено в отношении острой токсичности, которая оценивалась одним (например, летальным) эффектом, а оценке полисистемной хронической или хотя бы субхронической КТ по большому числу показателей посвящено лишь небольшое число работ. Поэтому полученные оценки ти-

па КТ недостаточны для имеющих основное значение в рамках профилактической токсикологии умеренных и даже слабых воздействий, угрожающих развитием хронических интоксикаций, для которых характерны полисистемность и взаимообусловленность эффектов. То, что при этом типы КТ могут быть не одинаковыми по отношению к разным эффектам, выявляется практически всегда, когда этот аспект проблемы исследуется (например, [1]), но таких исследований всё ещё мало, их теоретическое обобщение недостаточно, а практические выводы из них (в том числе в свете задач санитарного нормирования и оценки риска) не ясны¹.

К некоторым суждениям в этой области позволяет прийти рассматриваемый в совокупности с литературными данными наш собственный опыт экспериментального изучения и математического моделирования субхронической КТ при действии солей фтора и свинца [4], кадмия и свинца [5], марганца и никеля [6], марганца и хрома [6], никеля и хрома [6,7], марганца, никеля и хрома вместе [6], свинца и нафталена [8] а также оксидов марганца и никеля в форме наночастиц [9].

Основные понятия и их противоречивость. В современной токсикологии в качестве основного обозначения типа КТ обычно используется термин «аддитивность» (т.е. способность к сложению), а отклонения от этого типа, в зависимости от их направленности, обозначаются терминами «супераддитивность» (синонимы: «потенцирование», «синергизм») и «субаддитивность». Последняя нередко рассматривается как синоним более распространённого понятия «антагонизм», однако ниже будет показано, что оно имеет более широкий смысл.

Вместе с тем, вкладываемый разными авторами и разными документами в каждый из этих терминов, начиная с основного понятия аддитивности, различен в зависимости от явной или подразумеваемой приверженности определённым теоретическим представлениям, которые складываются на базе двух основных парадигм [11-16].

Первая из них принимает, что существует особый класс КТ, при которой определённый

¹ Авторы хотели бы подчеркнуть, что в их намерения не входит недооценка существенного вклада, внесенного в изучение хронической комбинированной токсичности давними, но не потерявшими значения работами отечественных исследователей, например, обобщёнными в [2, 3]. Однако в этих работах почти не применялся математический анализ и нередко использовались недостаточно чёткие термины для обозначения типов КТ, что не позволяет ссылаться на них в узких рамках настоящей статьи.

эффект разных веществ, входящих в комбинацию, обусловлен разными биологическими точками приложения и/или разными механизмами токсического действия. Поэтому эффект каждого вещества, входящего в комбинацию, может развиваться якобы независимо от одновременного развития того же самого эффекта других её составляющих, так что суммарный эффект комбинированного действия оказывается равным сумме всех эффектов изолированного действия этих составляющих – так называемая «аддитивность эффектов». При этом каждый такой изолированный эффект пропорционален дозе конкретного вещества с независимым от других коэффициентом пропорциональности (регрессии). При наличии же некоторого явного или скрытого взаимовлияния эффектов комбинированных веществ суммарный эффект может оказаться выше или ниже указанной суммы эффектов на определённую величину, зависящую от этого взаимовлияния. Такое скрытое взаимовлияние нередко связано с изменением токсикокинетики одного яда под влиянием другого, как показано, например, в случаях комбинации свинца и нафталина [8] или никеля и хрома [9].

Общим математическим выражением сказанного служит уравнение:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n + b_{12}x_1x_2 + \dots + b_{(n-1)n}x_{n-1}x_n + \dots + b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n \quad (1)$$

которое для простейшего и чаще всего рассматриваемого случая бинарной КТ принимает вид:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \quad (2)$$

Здесь y есть величина рассматриваемого показателя состояния организма при действии токсической комбинации, b_0 – его величина вне такого действия, x_i – доза каждого из n веществ, составляющих комбинацию, b_i – соответствующий коэффициент регрессии для изолированного действия этого вещества, а члены общего вида $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$ (для бинарной КТ – только $b_{12}x_1x_2$) соответствуют дозо-зависимому влиянию взаимодействия эффектов. Если последнее несущественно, то эти комбинационные (т.н. «перекрестные») члены уравнения значимо не отличаются от нуля, и уравнение выражает аддитивность эффектов. При супер- или субаддитивности эффектов комбинационный член уравнения имеет, соответственно, положительное или отрицательное значение, то есть эффект комбинации оказывается выше или ниже суммы эффектов, что

означает супер- или субаддитивность.

Однако чем больше веществ входит в комбинацию, тем выше вероятность того, что среди многих перекрестных членов $b_{12\dots n}x_1x_2\dots x_n$ окажутся как нулевые, так и отличающиеся от нуля, но с разными знаками. Практически невозможно найти адекватные термины, которые недвусмысленно определяли бы, какой тип КТ имеет место в подобных случаях. Именно поэтому понятие аддитивности эффектов и производные от него понятия супер- и субаддитивности реально применимы только к описанию типа бинарной КТ.

Но и в этом случае возникает сложность толкования даже уравнения (2), если речь идёт об эффекте, по которому действие комбинируемых веществ является противоположно направленным. В этом случае уравнение (2) принимает вид: $y = b_0 + b_1x_1 - b_2x_2 + b_{12}x_1x_2$, то есть даже при нулевом значении перекрестного члена алгебраическое суммирование двух эффектов означает арифметическое вычитание одного из другого, и формальная аддитивность КТ оказывается токсикологическим антагонизмом. Ещё больше запутывается смысл традиционной терминологии, если при противонаправленном действии токсических веществ перекрестный член отличен от нуля.

Таким образом, эта терминология является однозначной только для характеристики бинарной КТ по однонаправленным эффектам. В более общем случае некоторое уточнение в неё может внести различие между «явным антагонизмом» (под которым предлагается понимать противоположную направленность действия двух токсичных веществ по тому или иному эффекту) и «скрытым антагонизмом», который проявляется субаддитивностью однонаправленных эффектов. Явный антагонизм иногда называют функциональным [17].

Вторая распространённая парадигма теории КТ принимает, что два или более веществ, входящих в комбинацию, имеют одну и ту же точку приложения и один и тот же механизм действия, отличающегося только по силе. Иными словами, они действуют, как действовало бы одно и то же вещество в разных дозах, что исключает рассмотрение какого-либо взаимодействия эффектов. Основным типом КТ в этом случае также является аддитивность, которая (в отличие от рассмотренной выше «аддитивности эффектов») обозначается как «аддитивность доз» или, по имени автора [18], впервые сформулировавшего рассматриваемую парадигму, как «аддитивность Лёве».

Эта парадигма имеет привлекательно простое и кажущееся непосредственно примени-

мым к практике санитарного нормирования математическое выражение. Если речь идёт о КТ веществ А и В в дозах d_A и d_B , а D_A и D_B являются изоэффективными, т.е. равносильными дозами этих веществ по определённому эффекту действия (например, равными долями от их LD_{50}), то заданная величина соответствующего эффекта будет получена от их комбинированного воздействия в разных соотношениях при соблюдении условия:

$$(d_A / D_A) + (d_B / D_B) = 1.0. (3)$$

Если же это равенство не соблюдается, то есть для получения заданной величины эффекта потребуется сумма отношений фактических доз к изоэффективным, которая либо >1.0 , либо <1.0 , то это свидетельствует об антагонизме или синергизме доз, соответственно.

Общепринятым является графическое выражение этих зависимостей с помощью так называемых изоболограмм Лёве, построенных в осях d_A / D_A и d_B / D_B таким образом, что получающаяся линия (изоболо) является геометрическим местом точек, соответствующих заданной величине эффекта. Прямая линия, соединяющая указанные оси между точками $d_A=0$ и $d_B=0$, получается при полной аддитивности доз; лежащая выше прямой («выпуклая») кривая линия – при субаддитивности доз; лежащая ниже прямой («вогнутая») кривая линия – при супераддитивности доз. Нередко тип КТ различен в разных дозовых диапазонах, чему соответствует двухфазная или даже трёхфазная изоболо [19]. Необходимо подчеркнуть, что, как и в рамках ранее рассмотренной парадигмы аддитивности эффектов, такая самоочевидная содержательная трактовка аддитивности доз возможна только для КТ веществ, обладающих действием, одинаково направленным по оцениваемому эффекту.

Практика применения традиционных понятий комбинированной токсичности в области оценки риска и санитарного нормирования.

В то время как теоретическое разграничение между вышерассмотренными парадигмами КТ распространено широко и редко подвергается критическому обсуждению, существенная путаница при их практическом использовании наблюдается не только в некоторых научных публикациях, но и в ряде документов международного и национального уровня.

Так, основные типы КТ были сформулированы в 1981 году специальной экспертной группой ВОЗ в точном соответствии с парадигмой аддитивности эффектов, не упоминая об альтернативной [20], но уже в 1992 году так называемое Саарисельское соглашение рекомендовало использовать как аддитивность эффектов, так и аддитивность доз [21]. В 2009 году отчёт международной рабочей группы ВОЗ по оценке комбинированных химических воздействий [22], подтвердил распространённый взгляд на принципиальное различие между двумя парадигмами, но в то же время проиллюстрировал их смешение. В частности, говоря о синергизме и антагонизме, как об «отклонениях от аддитивности доз», отчёт расшифровывает это понятие в терминах аддитивности эффектов.

Методология оценки рисков для здоровья, которая принята или официально рекомендована во многих странах, предполагает характеристику многофакторного риска того или иного нарушения здоровья, вызванного комбинированными вредными экспозициями населения, как суммы однофакторных рисков. Если речь идёт о суммировании канцерогенных и некоторых других рисков, определяемых как вероятность возникновения или как дополнительное число случаев заболевания, то сложение этих величин согласуется с парадигмой аддитивности эффектов (точнее, ответов)². Однако и для суммарной характеристики многофакторных не канцерогенных рисков используется так называемый индекс опасности (HI – «hazard index»), представляющий собой сумму коэффициентов опасности (HQ – «hazard quotients») обособленных вредных веществ, то есть отношений оценённых доз этих веществ к соответствующим референтным. Этот расчёт внешне сходен с математическим выражением аддитивности доз (см. уравнение 3), но на самом деле не имеет с ним ничего общего, что не референтные дозы (RfD) разных веществ не являются изоэффективными, так и потому, что получающаяся величина HI может быть больше или меньше, чем 1,0, но это вовсе не говорит об отклонении от аддитивности доз.

В ряде стран (в том числе, в России и США) очень давно оценка соответствия уровней многокомпонентного загрязнения воздуха рабочих помещений, а иногда и других объектов среды нормативным требованиям (в России – ПДК) или рекомендациям (имеющим разное наименование в разных странах) проводится

² Этот частный случай реализации первой парадигмы КТ, описываемой для бинарной комбинации веществ математическим выражением $P(A,B) = P(A) + P(B) - P(A)P(B)$, где P – доля объектов воздействия вещества А или В или их комбинации А,В, им поражённая, давно известен как независимость Блисса [23] – термин, который нередко применяется ошибочно для обозначения данной парадигмы в целом.

по соблюдению или несоблюдению равенства: $C_1/ПДК_1 + C_2/ПДК_2 + C_3/ПДК_3 + \dots + C_n/ПДК_n = 1$ (4)

- где C_i фактически наблюдаемые концентрации каждого из n веществ.³

Основой такого подхода, несомненно, является парадигма аддитивности доз, однако и в этом случае следует помнить, что ПДК для разных веществ в силу методологии и истории их обоснования не могут рассматриваться как изоэффективные концентрации. Для некоторых конкретных случаев синергизма действия двух загрязнителей (независимо от того, что характер их КТ оценивался в экспериментах путём сравнения не изоэффективных доз, а эффектов при заданных дозах) иногда принимается, что рассматриваемая сумма должна быть $<1,0$, но насколько именно меньше, решается произвольно.

Основные положения, вытекающие из сопоставления литературных данных и собственных экспериментов по изучению субхронической бинарной токсичности.

В наших экспериментальных исследованиях, перечисленных в начале статьи, состояние организма у лабораторных крыс параллельно оценивалось с помощью 40-50 биохимических, функциональных и морфометрических показателей, имеющих как интегральный, так и специфический характер, в следующих группах животных: (а) при отсутствии токсических воздействий, (б) при обособленном воздействии каждого из изучаемых веществ в дозах, как правило, изоэффективных по острому летальному эффекту (чаще всего, равных или близких к $0,05$ ЛД₅₀), (в) нередко также при воздействии половинных от указанных доз; (г) при комбинированном воздействии этих веществ во всех сочетаниях соответствующих доз.

Оценка типа КТ проводилась по каждому из измеренных эффектов как на основе простой логики (здравого смысла) путём межгруппового сопоставления средних величин, так и с помощью разных математических моделей, соответствующих парадигмам аддитивности эффектов (дисперсионный анализ – ANOVA), аддитивности доз (математическая теория планирования экспериментов) или объединяющих обе идеи (метод построения поверхности отклика) [24].

Обобщение всех полученных результатов анализа свидетельствует о следующем:

Принципиальных расхождений между выводами, полученными при разных подходах,

не наблюдалось, что позволяет считать названные парадигмы отражающими скорее способ математического моделирования КТ, чем какие бы то ни было фундаментальные различия механизмов токсического действия разных комбинаций, хотя именно они, как было указано выше, составляют сущность этих парадигм.

В рамках обеих парадигм реально отмечаются не только рассмотренные выше три типа КТ (аддитивность, синергизм, антагонизм), но и различные варианты и сочетания этих типов в зависимости от того, о каком именно эффекте токсического действия идёт речь, а также от величины этого эффекта, от уровня и соотношения доз. При действии одной и той же пары токсических веществ можно было реально наблюдать не менее 5, а в некоторых случаях до 10 таких вариантов.

Как уже указывалось, для комбинаций, в которых наблюдается противоположно направленное влияние токсических веществ на те или показатели состояния организма, использование трёх традиционных типологических терминов встречается с серьёзными затруднениями интерпретации и создаёт искусственные противоречия между математическими оценками КТ и её логической оценкой токсикологом и гигиенистом. Методология анализа, основанная на сравнении наблюдаемого эффекта с поверхностью отклика при нулевом взаимодействии даёт математическое описание типа КТ при любой направленности действия [6].

Пример экспериментальной оценки и математического моделирования бинарной КТ.

В эксперименте, построенном по описанному выше типичному дизайну, изучалась КТ никеля (в форме $NiCl_2$) и марганца (в форме $KMnO_4$).

Анализ результатов, проведенный на базе уравнения (2) (с использованием метода построения поверхности отклика для построения изоболограмм) выявил по разным эффектам:

- аддитивность однонаправленного действия;
- супераддитивность однонаправленного действия;
- субаддитивность однонаправленного действия;
- супераддитивность действия, однонаправленного при одних дозах и противоположного при других;
- супераддитивность и субаддитивность в зависимости от уровня эффекта.

³ В отечественной гигиенической литературе это уравнение традиционно называется «формулой Аверьянова», но нам, к сожалению, не удалось найти ни первоисточника, ни хотя бы ссылки на него.

Рисунок 1 иллюстрирует первые три варианта КТ, соответствующие трём традиционным терминам, а рисунок 2 – остальные, более сложные варианты.

Понятие основного типа бинарной комбинационной токсичности.

Вскрытие многообразия типов КТ при воздействии одной и той же пары токсических веществ даёт важную информацию, в частности, для понимания и прогнозирования клинической картины соответствующих интоксикаций, но для использования этой информации в практических целях оценки и управления рисками обобщающая качественная оценка каждой изученной комбинации должна

быть более или менее однозначной. Однако мы убеждены, что стремиться к такой однозначности следует не по пути упрощения этой проблемы, чреватой серьёзными ошибками, а, напротив, на базе как можно более полного понимания её сложности. Решить эту задачу позволяет введение дополнительного понятия «основной» или «определяющей» тип КТ [19].

Выбор основного из всех вариантов КТ, обнаруживаемых в экспериментах с конкретной бинарной комбинацией токсических веществ, может опираться на ряд критериев:

превалирующее значение того типа КТ, который характерен для низких доз;
в тех случаях, в которых рассматриваемая

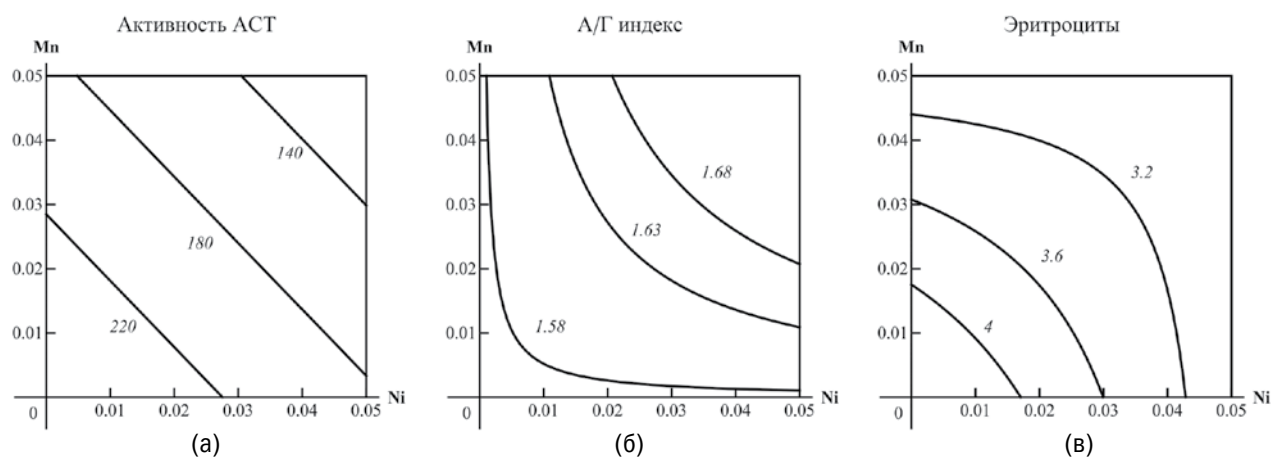


Рис. 1. Примеры изоболограмм для трёх типов КТ никеля и марганца, соответствующих традиционным определениям (а) аддитивности, (б) супераддитивности (синергизма) и (в) субаддитивности (антагонизма) односторонних эффектов. На осях координат – дозы металлов в долях соответствующих LD_{50} ; числа над изоболограммами – заданные уровни эффекта, к которым эти изоболы относятся.

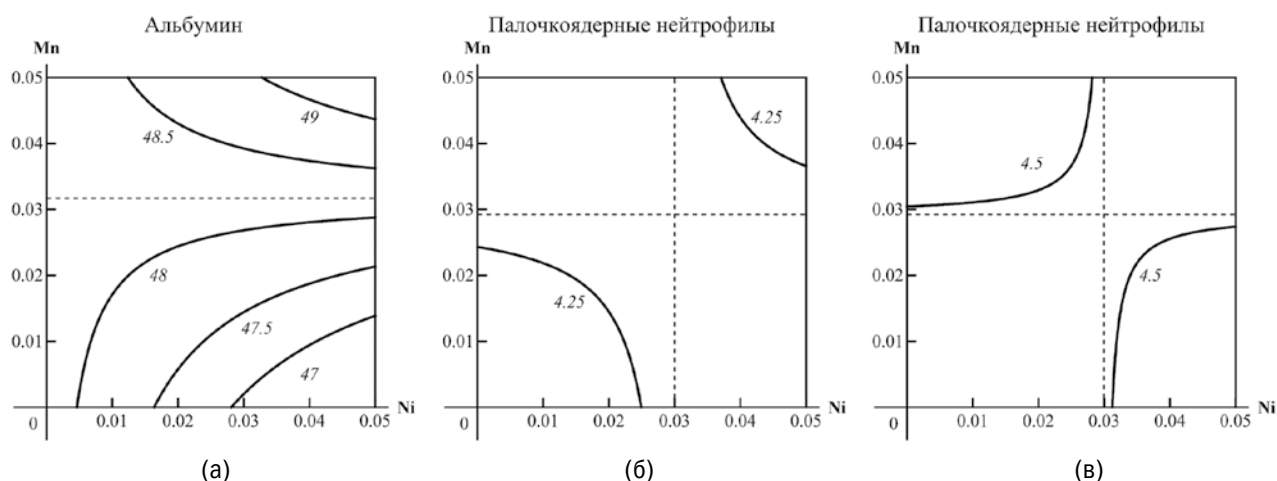


Рис. 2. Примеры изоболограмм для некоторых субвариантов типа КТ никеля и марганца: (а) субаддитивность противонаправленного действия на низких уровнях эффекта и супераддитивность одностороннего действия – на высоких уровнях того же эффекта; (б) одна из ветвей изоболограммы, соответствующая высокому уровню эффекта и демонстрирующая одностороннее действие металлов, которое является субаддитивным при низких дозах, но супераддитивным при более высоких; (и) другая ветвь той же изоболограммы, соответствующая низкому уровню того же эффекта и демонстрирующая противонаправленное действие металлов, причём зависимость типа КТ от дозового диапазона обратная по сравнению с (б). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

комбинация в реальных условиях встречается, главным образом, в узком диапазоне соотношений между её компонентами – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для этого диапазона;

в тех случаях, в которых известны критические органы и системы организма, играющие наибольшую роль в токсикодинамике и/или токсикокинетике данной комбинированной интоксикации – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для эффектов, связанных с действием на эти органы и системы;

в тех случаях, в которых хотя бы одно из веществ, входящих в комбинацию, относится к высоко опасным (в особенности, когда оно обладает генотоксичностью, канцерогенностью, репродуктивной токсичностью) – преобладающее значение того типа КТ, который характерен для соответствующих эффектов.

Подход к анализу КТ трёхфакторных комбинаций.

При рассмотрении уравнения (1) было подчеркнуто, что при воздействии многофакторных комбинаций сохраняет значение тот же самый анализ КТ для каждого из бинарных сочетаний, вычлениваемых из этих комбинаций, но прямое использование методологии такого же анализа на базе этого уравнения и основанной на нём классификации типов КТ для однозначной характеристики всей многофакторной комбинации в целом оказывается практически невозможным даже тогда, когда этих факторов только три.

Для таких трёхфакторных токсических комбинаций нами был предложен и успешно апробирован на примере КТ никеля, марганца и хрома [6] двухэтапный анализ. На первом этапе оцениваются все варианты КТ для каждого из трёх бинарных сочетаний (в данном случае: Mn+Ni, Mn+Cr, Ni+Cr), а на втором – все эффекты токсического воздействия классифицируют-

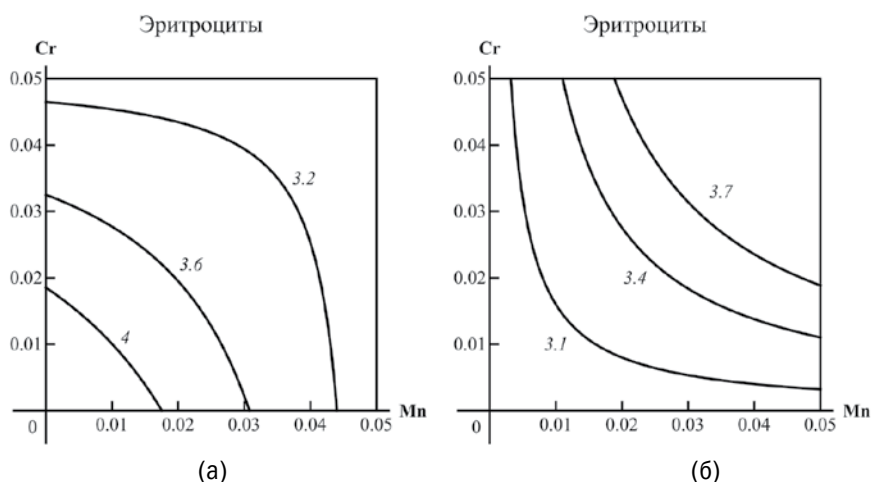


Рис. 3. Изоболограммы комбинированного действия марганца и хрома, оцениваемого по снижению числа эритроцитов: (а) в отсутствии третьего металла (субаддитивность), (б) на фоне одновременного действия никеля в дозе 0,05 ЛД₅₀ (супераддитивность). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

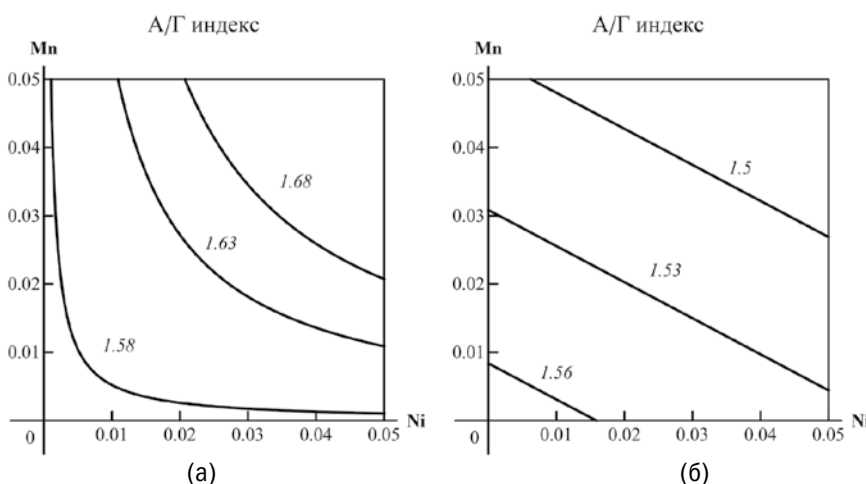


Рис. 4. Изоболограммы комбинированного действия марганца и никеля, оцениваемого по снижению коэффициента А/Г: (а) в отсутствии третьего металла (супераддитивность), (б) на фоне одновременного действия хрома в дозе 0,05 ЛД₅₀ (аддитивность). Числовые обозначения те же, что на рисунке 1.

ся в зависимости от того, оказывается ли на фоне действия третьего фактора тип одной и той же бинарной КТ более неблагоприятным для организма (класс А – пример дан на рисунке 3), менее неблагоприятным для организма (класс В – пример на рисунке 4) или остаётся существенно не изменившимся (класс С). Предварительно принимается, какие именно изменения типов КТ определяют эти классы.

Была показана удовлетворительная стабильность этой классификации, которая хорошо воспроизводилась при рассмотрении один за другим всех трёх токсичных металлов в качестве фонового фактора, притом что вероятность случайности такого воспроизведения оценивалась как чрезвычайно низкая. Таким образом, для абсолютного большинства эф-

фактов эта классификация оказалась внутренне непротиворечивой.

Легко заметить, однако, что уже при увеличении числа факторов до 4-х и этот подход к классификации КТ реально не осуществим. Для таких многофакторных смесей пока наиболее целесообразно отказаться от попыток охарактеризовать в целом сложную картину взаимовлияния всех факторов, а при хотя бы относительно постоянном соотношении между компонентами – просто рассматривать каждую практически значимую смесь как особое вещество и оценивать эффекты его действия на организм, их зависимость от дозы, безопасные уровни воздействия, эффективность биопротекторов и т. д.

Учёт типа КТ бинарных и трёхфакторных комбинаций при обосновании некоторых решений в сфере анализа рисков.

Выше уже были упомянуты некоторые способы количественного учёта типа КТ при решении задач оценки экспозиции многокомпонентных загрязнений среды и оценки многофакторных химических рисков для здоровья, предлагаемые в официальных документах национального и международного уровней, и были отмечены существенные неопределённости этих способов и тех допущений, на которых они основаны. Дополнительно к этому можно указать на ещё один заведомо не количественный, но, тем не менее, важный аспект практического использования результатов изучения КТ в рамках системы анализа и управления рисками [6].

Оценивая суммарный многофакторный риск общепринятым способом суммирования однофакторных, экспертиза должна принимать во внимание то, что если токсикологическими исследованиями был доказан синергизм токсического действия двух факторов по эффектам, которые могут быть отнесены к основным для определения типа КТ, или если при оценке трёхфакторной КТ такие основные эффекты были отнесены к классу А по рассмотренной выше методике, то указанный стандартный приём суммирования недооценивает суммарный риск. Если же основным типом бинарной КТ является субаддитивность, а основные эффекты трёхфакторной КТ отнесены к классу В, то простое суммирование однофакторных рисков, вполне вероятно, даёт более или менее завышенную оценку многофакторного.

В первом случае рекомендуется считать, что предлагаемые сценарии управления риском должны быть, насколько это осуществимо, наиболее радикальными. Так, например, в расчёт потребных воздухообменов производственного помещения и в проектирование других технических способов снижения ингаляционных экспозиций, учитывающий равенство 4 (основанное на допущении аддитивности доз), должен быть внесен дополнительный запас надёжности.

Что же касается второго случая, то он позволяет рассчитывать на уже имеющийся запас надёжности профилактических мер, нацеленных на достаточную защиту от аддитивной токсичности (но, разумеется, не даёт оснований к их ослаблению).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ATSDR Interaction profile for: arsenic, cadmium, chromium, and lead, agency for toxic substances and disease registry. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services; 2004.
2. Кустов В. В., Тиунов Л. А., Васильев Г. А. Комбинированное действие промышленных ядов. М.: Медицина; 1975.
3. Толоконцев Н. А., Филон В. А., ред. Основы общей промышленной токсикологии. Л.: Медицина; 1976.
4. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A. N., Privalova L.L., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead –fluoride combination). Toxicology reports. 2015; 2: 297-3
5. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.L., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. Food and Chem. Toxicol. 2014; 64: 144-1
6. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliyeva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.L., Slyshkina T.V. et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). Toxicology. 2015; 334: 33-44.
7. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.L., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium (VI) and nickel toxicity. Int. J. Toxicol. 2014; 33 (6): 498-505.
8. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A., Degtyareva T.D., Privalova L.L., Beresneva T.A. Does a concomitant exposure to lead influence unfavorably the naphthalene subchronic toxicity and toxicokinetics? Environmental Toxicology & Chemistry. 2014; 33: 152-157.
9. Кацнельсон Б. А., Минигалиева И. А., Привалова Л. И., Сутункова М. П., Гурвич В. Б., Шур В. Я., Шишкина Е. В., Вараксин А. Н., Панов В. Г. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и её ослабление биопротекторной премедикацией. Токсикологический Вестник. 2014; 6: 8- 14.
10. Berenbaum M.C. The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theoretical Biol. 1985; 114: 413-431.
11. European Commission, Directorate-General for Health and Consumers. Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. 2012
12. Groten J.P., Feron V.J., Sühnel J.S. Toxicology of simple and complex mixtures. Trends in Pharmacological Sciences. 2001; 22: 316-322.
13. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS International Workshop on aggregate/cumulative risk assessment. Geneva, World Health Organisation; 2009.
14. Box G.E.P., Draper N.R. Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2007.
15. Tallarida R.J. Drug synergism: its detection and applications. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; 298 (3): 865-872.
16. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
17. Timbrell J. Principles of Biochemical Toxicology, 3rd ed. Taylor & Francis Ltd.; 2000.
18. Loewe S. The problem of synergism and antagonism of combined drugs. 19. Arzneimittelforschung. 1953; 3: 285-2
20. Кацнельсон Б. А. Комбинированное действие химических веществ. В кн.: Курляндский Б. А., Филон В. А., ред. Общая токсикология. М.: Медицина; 2002: 497-520.
21. WHO Health Effects of Combined Exposures in the Work Environment. Geneva: World Health Organisation; 1981.
22. Greco W., Unkelbach H.D., Pösch G., Sühnel J., Kundi M., Bödeker W. Consensus on concepts and terminology for combined-action assessment: The Saariselkä Agreement. Arch. Complex Environ. Studies. 1992; 4: 65-69.
23. Meek M.E., Boobis A.R., Crofton K.M., Heinemeyer G., Kleiner J., Lund B.-O. et al. Assessment of combined exposures to multiple chemicals. In: Assessment of cumulated exposures to multiple chemicals. Report of a WHO/IPCS International Workshop. Geneva: World Health Organization; 2009: 11-16.
24. Bliss C.I. The toxicity of poisons applied jointly. Ann. Appl. Biol. 1939; 26: 585-615.
25. Sühnel J. Zero interaction response surfaces, interactions functions and difference response surfaces for combinations of biologically active agents. Arzneimittelforschung. 1992; 42: 1251-1258.

REFERENCES:

1. ATSDR Interaction profile for: arsenic, cadmium, chromium, and lead, agency for toxic substances and disease registry. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services; 2004.
2. Kustov V.V., Tiunov L.A., Vasilyev G.A. A combined action of industrial poisons. Moscow, "Medicina" Publishing House; 1975 (in Russian).
3. Tolokantsev N.A., Filov V.A. (eds). Foundations of the general industrial toxicology. Leningrad, "Medicina" Publishing House; 1976 (in Russian).
4. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A. N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). Toxicology reports. 2015; 2: 297-3
5. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. Food and Chem. Toxicol. 2014; 64: 144-1
6. Katsnelson B.A. Panov V.G., Minigaliyeva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V. et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). Toxicology. 2015; 334: 33-44.
7. Minigaliyeva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurchich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N. et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium (VI) and nickel toxicity. Int. J. Toxicol. 2014; 33 (6): 498-505.
8. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A., Degtyareva T.D., Privalova L.I., Beresneva T.A. Does a concomitant exposure to lead influence unfavorably the naphthalene subchronic toxicity and toxicokinetics? Environmental Toxicology & Chemistry. 2014; 33: 152-157.
9. Katsnelson B.A., Minigaliyeva I.A. Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurchich V.B., Shur V.B., Shishkina E.V., Varaksin A.N., Panov V.G. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pretreatment. Toksikol Vestnik, 2014; No6: 8- 14 (in Russian)
10. Berenbaum M.C. The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theoretical Biol. 1985; 114: 413-431.
11. European Commission, Directorate-General for Health and Consumers. Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. 2012
12. Groten J.P., Feron V.J., Sühnel J.S. Toxicology of simple and complex mixtures. Trends in Pharmacological Sciences. 2001; 22: 316-322.
13. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: Report of a WHO/IPCS International Workshop on aggregate/cumulative risk assessment. Geneva, World Health Organisation; 2009.
14. Box G.E.P., Draper N.R. Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.; 2007.
15. Tallarida R.J. Drug synergism: its detection and applications. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; 298 (3): 865-872.
16. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
17. Timbrell J. Principles of Biochemical Toxicology, 3rd ed. Taylor & Francis Ltd.; 2000.
18. Loewe S. The problem of synergism and antagonism of combined drugs. 19. Arzneimittelforschung. 1953; 3: 285-2
20. Katsnelson, B.A. (2002). The combined action of chemicals. In: «General Toxicology», (Kurlyandsky B.A., Filov V.A., Eds), Moscow: "Meditsina" Publishing House, pp. 497-520 (in Russian).
21. WHO Health Effects of Combined Exposures in the Work Environment. Geneva: World Health Organisation; 1981.
22. Greco W., Unkelbach H.D., Pösch G., Sühnel J., Kundi M., Bödeker W. Consensus on concepts and terminology for combined-action assessment: The Saariselkä Agreement. Arch. Complex Environ. Studies. 1992; 4: 65-69.
23. Meek M.E., Boobis A.R., Crofton K.M., Heinemeyer G., Kleiner J., Lund B.-O. et al. Assessment of combined exposures to multiple chemicals. In: Assessment of cumulated exposures to multiple chemicals. Report of a WHO/IPCS International Workshop. Geneva: World Health Organization; 2009: 11-16.
24. Bliss C.I. The toxicity of poisons applied jointly. Ann. Appl. Biol. 1939; 26: 585-615.
25. Sühnel J. Zero interaction response surfaces, interactions functions and difference response surfaces for combinations of biologically active agents. Arzneimittelforschung. 1992; 42: 1251-1258.

B.A. Katsnelson¹, A.N. Varaksin², V.G. Panov², L.I. Privalova¹, I.A. Minigaliyeva¹, E.P. Kireyeva¹

EXPERIMENTAL MODELING AND MATHEMATICAL DESCRIPTION OF THE CHRONIC COMBINED TOXICITY AS A BASIS OF MULTI-FACTOR CHEMICAL HEALTH RISKS ANALYSIS

¹The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of Industrial Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

Some postulates of the theory and mathematical modeling of combined toxic effect are considered critically and their further development is suggested. To this end, results of experiments on rats exposed to repeated intraperitoneal injections of several binary and a three-factorial combination of chemicals, mostly toxic metals salts or metal-containing nanoparticles were analyzed. Intoxications were quantitatively characterized with tens of functional, biochemical and morphometric indices. The mathematical description of combined effects was based both on common descriptive statistics and two mathematical models using analysis of variance ANOVA (a) and (b) mathematical theory of response surface construction which correlate with widely recognised paradigms of the combined toxicity theory- additivity of effects and doses additivity respectively. It was concluded that these paradigms are virtually interchangeable and should be considered as different methods of combined toxicity modelling rather than as representing fundamentally differing processes. Thus, the zero interactive response surface regression model seems preferable because it is invariant with respect to these paradigms. Within a mathematical model there exist not only three traditionally used types of combined toxicity (additivity, subadditivity and super additivity) but a lot of its variants depending on which effect is exactly considered and on its level, as well as on the dose levels and their ratio. A special attention is given to modeling opposing effects of toxics. The expedience of introducing a concept of a main (determinant) type of combined toxicity is emphasized, and criteria of its choice are proposed. For characterizing the three-factorial toxicity, a new health risk-oriented approach is suggested, the gist of which is a classification of effects depending on whether a binary combined toxicity type remains virtually the same or appears to be either more or less adverse when modeled against the background of the third toxic.

The relevance of the above results to health risk analysis and management is briefly discussed.

Keywords: combined toxicity, risk analysis, isobolograms.

Материал поступил в редакцию 13.08.2015 г.