

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ. МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ

УДК 615+615.21

БАТАРЕЯ КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ТЕСТОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ

М.Л.Зиновьева, П.Г. Жминько, доктор биол. наук

ГП "Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведя МЗ Украины", г. Киев

РЕЗЮМЕ. В статье освещены основные преимущества и критические точки методических подходов к оценке клинического состояния и неврологического статуса животных в токсикологическом и фармакологическом исследованиях, осуществляемых в регуляторных целях. Представлены основные характеристики батареи клинико-функциональных тестов (КФТ) для крыс, внедренной в ГП "Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведя МЗ Украины".

Цель исследования. Оценка специфичности и чувствительности внедренной в НЦ батареи КФТ для крыс при пероральном воздействии известного нейротропного агента – хлорпромазина (ХП) в дозах 8 и 16 мг/кг.

Материалы и методы. Клиническое состояние крыс Wistar Han SPF после перорального введения ХП оценивали с использованием батареи КФТ через 15, 30, 60, 120, 240 минут и 24 часа. Статистический анализ проведен с применением критериев Стьюдента и Манна-Уитни.

Результаты. Применяемая батарея КФТ эффективно отражает зависимость от дозы и времени воздействия угнетение нервной системы крыс при влиянии ХП. В дозе 16 мг/кг ХП вызывал снижение сенсомоторных реакций, мышечного тонуса, сонливости, вокализацию при касании, мидриаз, появление латентного периода начала движения, снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности в «открытом поле» в период 30–240 мин. после введения. При действии ХП в дозе 8 мг/кг установлено снижение реакции на приближение и касание, мышечного тонуса, горизонтальной двигательной активности в период 60–240 мин после введения.

Ключевые слова: крысы, нейротоксичность, хлорпромазин, клинико-функциональные тесты.

В экспериментальной токсикологии при исследовании токсичности ксенобиотиков особое внимание уделяется изучению клинического состояния животных при воздействии различных дозовых уровней токсиканта на организм, что позволяет оценить характер его токсического действия, определить системы-мишени, спланировать дальнейшие токсикологические исследования. Особое место занимает изучение неврологического статуса животных при острых и хронических интоксикациях, что позволяет выявить опасные нейротоксиканты и недопустить их к внедрению в народное хозяйство.

В настоящее время методические подходы к оценке клинического состояния и неврологического статуса лабораторных животных и методы исследования в токсикологическом эксперименте, используемые различными исследователями, значительно варьируют, что затрудняет объективную оценку неблагоприятного воздействия ксенобиотиков на организм. В связи с этим актуальным является анализ существующих международных методических подходов, норм и требований, предъявляемых к исследованию клинико-функциональных показателей состояния организма, выбор наиболее современных и адекватных тестов с целью их имплементации в практику токсикологических исследований в Украине. Важной составляющей имплементации международных стандартов в практику является

экспериментальное подтверждение эффективности методических подходов на этапе их практического внедрения, что соответствует принятой Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) концепции взаимного принятия данных (Decision of the Council concerning the mutual acceptance of data in the assesment of chemicals, 1981).

В отличие от рутинного клинического осмотра животного в токсикологическом эксперименте, ограничивающемся перечислением клинических симптомов интоксикации, батарея клинико-функциональных тестов (КФТ) представляет собой серию систематических клинических наблюдений и функциональных тестов, позволяющих не только выявить, но и количественно оценить воздействие химических веществ на вегетативные функции, эмоциональные, сенсомоторные, двигательные и другие поведенческие реакции лабораторных животных. Существующие модификации данного комплекса тестов предполагают оценку общеклинического состояния животных и выявление нейротоксического потенциала исследуемого повреждающего фактора как при однократном, так и длительном воздействии [1-3].

Впервые комплекс КФТ был предложен S.Irwin для выявления нейротоксического воздействия различных химических субстанций в эксперименте на мышах [4]. Позднее модификации этого теста были адаптированы для наи-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ. МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ

более широко используемого вида лабораторных животных – крыс [5] и в регуляторной токсикологии известны как Functional Observational Battery (FOB). В связи с актуальностью исследования токсического воздействия на нервную систему на различных стадиях развития организма батарея КФТ модифицирована для крыс раннего возраста (17 дней и старше) [6, 7]. Тест применяется также для поведенческого фенотипирования лабораторных животных различных линий [8, 9].

В системе сертифицированного, согласно международных норм, нейротоксикологического исследования батареи КФТ используется на всех этапах неклинической оценки безопасности химических веществ различного назначения. Разработка и внедрение стандартизированных методических подходов к проведению клинических наблюдений и функциональных тестов в регуляторных неклинических исследованиях была начата по инициативе Национальной академии наук США (U.S. NAS) в 70-х годах прошлого столетия в Агентстве по охране окружающей среды США (U.S.EPA) [10]. Окончательно они были сформулированы в Методических рекомендациях по оценке воздействия на здоровье U.S.EPA [11] и соответствующих руководствах Организации экономического сотрудничества и развития. Аналогичные подходы рекомендованы Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (U.S. Food and Drug Administration, U.S.FDA) [12] и Международной конференции по гармонизации (International Conference on Harmonization, ICH) [13].

Как правило, батарея КФТ включает 25-30 конечных точек, однако их количество может достигать 50 и более [14, 15]. Наряду с оценкой общего состояния животного данный тест включает показатели общей активности (реактивность, двигательная активность и др.), изменения высшей нервной деятельности (стереотипия, изменения зоосоциального поведения, агрессия и др.), наличие неврологических симптомов (тремор, судороги, конвульсии, ригидность мышц и др.), нарушений координации (изменения походки и др.), вегетативных нарушений (саливация, слезотечение, изменения уринации, дефекации, температуры тела и др.). Обязательным компонентом батареи КФТ является исследование поведения животных в «открытом поле». Кроме наблюдений, проводятся функциональные тесты: оценка сенсорной реактивности при использовании стимулов различной модальности (звуковые, визуальные, проприоцептивные, тактильные, болевые), оценка врожденных реакций (двигательные, позотонические),

нервно-мышечной функции – измерение силы захвата конечностей (grip strength) [16, 17] и др., что расширяет возможности диагностики функциональных нарушений. Неинвазивный характер является неоспоримым преимуществом данного методического подхода, поскольку позволяет проследить появление, развитие, длительность и обратимость нейротоксического воздействия с учетом его интенсивности.

Несмотря на неоспоримые преимущества батареи КФТ, такие как неинвазивность и простота используемого оборудования, данный методический подход не лишен ряда сложностей, связанных как с выполнением теста, так и с интерпретацией полученных результатов. Необходимость объективизировать результаты наблюдений приводит к неоднородности получаемых данных. Показатели представляются как в описательном, так и в количественном видах. Количественные данные, в свою очередь, представлены бинарными (наличие/отсутствие признака), ранговыми (степень выраженности нарушений), дискретными (подсчитываемыми) и непрерывными (измеряемыми). Для преодоления трудностей, возникающих при необходимости анализа неоднородных показателей, предложен метод перевода количественных (как правило, дискретных и непрерывных) данных в ранговые с учетом величины стандартного отклонения показателя для группы контрольных животных (табл. 1) [20].

Высокая степень субъективности оценки требует специальной подготовки персонала выполняющего данный тест и четко разработанной шкалы, позволяющей дифференцировать состояние животных [1]. Необходимо также учитывать, что результаты исследования, проводимого *in vivo*, в значительной мере зависят от «готовности» животных к выполнению функциональных тестов, на которую, в свою очередь, влияют даже незначительные изменения условий эксперимента [18], в том числе и сама процедура тестирования. Значительный объем конечных точек данного теста, субъективный характер оценки большей части из них, вариабельность поведенческих показателей в целом может приводить как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам (ошибки 1 и 2 типа) [19].

Снизить риск ошибочного суждения на основании результатов батареи КФТ позволяет увеличение количества временных точек исследования. Оптимизации процесса оценки результатов батареи КФТ способствует также группировка регистрируемых показателей в комплексы (домены), отражающие основные нейрофизиологические функции организма –

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

Таблиця 1

Классификация изменений измеряемых и дискретных показателей по степени выраженности [20]

Отклонение результата измерения от среднего значения для контрольной группы животных	Описание
В пределах 1 CO	Типично для интактных животных
1 CO – 1,5 CO	Слегка атипичное состояние, может наблюдаться в отдельных случаях у интактных животных, однако может свидетельствовать и о слабом повреждающем воздействии
1,5 CO – 2,0 CO	Атипично, редко наблюдается у интактных животных, может отражать умеренное проявление интоксикации
Более 2,0 CO	Полностью атипично, отражает выраженную интоксикацию

Примечание: CO – среднеквадратическое отклонение среднего значения

нейровегетативные реакции, нервно-мышечную, сенсомоторную функции, активность центральной нервной системы и ее реактивность [6, 20]. Возможно выделение и иных доменов, как правило, при исследовании фармакологически активных веществ, таких как стереотипическое поведение, болевой синдром и др. [21]. Группировка показателей в соответствии с доменами весьма условна, поскольку один показатель может быть отнесен более чем к одному домену, а единый механизм воздействия может вызывать эффекты в различных доменах. Так, изменение двигательной активности на открытой площадке может отражать состояние не только моторной, но и сенсорной функции [22, 23], эмоциональности [24, 25], памяти [26]. В данном случае распределение результатов батареи КФТ в соответствии с доменами позволяет более точно локализовать точку приложения нейротоксического воздействия. Способствуют этому и данные исследования анатомического базиса функциональных тестов [27, 28, 29].

Интерпретация данных батареи КФТ требует обоснованного подбора статистических методов [30], однако не ограничивается простым принятием статистических критериев. В данном случае оправдан подход, рекомендованный ИСН – учет биологических эффектов, статистическая вероятность которых может быть ниже заданных критериев, а физиологическая значимость – высокой [31]. Учитывая вышеизложенное, к проведению батареи КФТ предъявляется ряд требований, среди которых: разработка четкой процедуры исследования, постоянный контроль квалификации персонала, проведение теста в рамках одного исследования неизменным персоналом, ограничение информированности персонала об исследуе-

мых веществах и дозах, периодическое проведение биовалидационных исследований с применением известных нейротропных агентов.

Как отмечает V.C. Moser [32], не существует единого протокола батареи КФТ, скорее это рекомендации касательно подходов и методов, которые должны быть использованы. Хотя целый ряд протоколов оценки неврологического статуса экспериментальных животных был опубликован в последние десятилетия [29, 33-35], каждая из лабораторий разрабатывает и использует собственную версию. Общим требованием к методам, применяемым в сертифицированном нейротоксикологическом исследовании, является демонстрация чувствительности, специфичности и надежности в ходе биовалидационных исследований с использованием известных нейротропных химических субстанций [36].

Батарея КФТ для крыс, внедренная в Научном центре превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя МЗ Украины (НЦ) разработана с учетом рекомендаций ОЭСР по оценке нейротоксического действия на животных на основе гармонизированных шаблонов для представления данных отчетов об исследовании химических субстанций (OECD Harmonised Templates for Reporting Chemical Test Summaries) [37]. Как видно из табл. 2, данный комплекс включает 26 показателей клинического состояния животных, их двигательной активности, поведенческих актов, основных сенсомоторных реакций, офтальмоскопических показателей. Этот перечень может быть оперативно расширен в ходе выполнения исследования путем внесения описания выявляемых изменений. Данные представляются в описательном, дискретном, ранго-

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

Таблиця 2

Показатели батареи КФТ для крыс

Наблюдение в клетке содержания	Тип данных	Осмотр животного в руках	Тип данных	Наблюдения в «открытом поле»	Тип данных
Поза	о	Полиурия	д	Латентный период движения	н
Судороги	о	Диарея	б	Судороги	о
Конвульсии	о	Лакримация	б	Конвульсии	о
Аномальное поведение	о	Саливация	б	Нарушение походки	о
Вокализация	б	Пилоэрекция	б	Горизонтальная двигательная активность	д
Реакция на приближение и касание	р	Мышечный тонус	р	Стойки	д
Тактильно-болевая чувствительность	р	Степень открытия глаза	р	Грумминг	д
Аудиомоторная реакция	р	Состояние зрачка	р	Уринации	д
		Зрачковый рефлекс	р	Дефекации	д
Иные симптомы					

Примечание: * о – описательные, б – бинарные, р – ранговые, д – дискретные, н – непрерывные.

вом, количественном выражениях. Ранжирование показателей проведено с использованием шкалы от 0 до 4 баллов, где нормальным значениям показателей присвоен ранг 2, что дает возможность выявить и количественно оценить направленность (стимуляцию или угнетение) нейротоксического действия, что отвечает задачам токсикологического исследования. При ранжировании учтена природа показателя, каждому из рангов соответствует четкое описание реакции животного. Процедура исследования разработана с учетом основных лимитирующих факторов нейротоксикологического исследования – временных затрат на обследование одного животного (от 2-х до 5 минут) и минимизации стрессовой нагрузки в ходе ее выполнения, что позволяет применять ее не только при длительном, но и при однократном воздействии исследуемого вещества в динамике.

Цель исследования. Оценка специфичности и чувствительности внедренной в НЦ батареи КФТ для крыс при пероральном воздействии известного нейротропного агента – хлорпромазина в дозах 8 и 16 мг/кг.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) [36, 37] на крысах-самках линии Wistar Han SPF возрастом 10 недель, массой тела 176-219 г, полученных из клиники лабораторных животных НЦ и прошедших акклиматизацию в течение 5 дней. Животные были распределены на 3 группы по 5 крыс и содержались в клетках Т-4(40×30×15 см) по 1 или 2 особи в условиях вивария SPF при искусственном освещении с 12 часовым циклом. Доступ крыс к корму и воде не ограничивали. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами (European Communities Council Directives of 24 November, 1986, 86/609/EEC).

Хлорпромазина гидрохлорид (ХП) (2,5% раствор в ампулах для инъекций производства корпорации «Артериум» (Украина) вводили зондом внутрижелудочно однократно в виде водных растворов в дозах 8 мг/кг (группа 1) и 16 мг/кг (группа 2) ХП. Объем введенной животному жидкости во всех группах составлял 5 мл/кг. Контролем служили интактные крысы (группа 3).

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ. МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ

Оценку состояния животных в клетке содержания и при изъятии из нее, включая билатеральное офтальмоскопическое обследование, проводили в динамике – через 15, 30, 60, 120, 240 минут и через 24 часа после введения ХП. Тестирование животных в «открытом поле» осуществляли однократно, через 120 минут после воздействия ХП. Обследование животных проводили «вслепую», без осведомления экспериментатора о веществе и дозах, вводимых животным.

Клинические симптомы и другие описательные показатели оценивали в соответствии с национальными и международными рекомендациями [39,39].

Сенсомоторные реакции оценивали по 4-х балльной шкале: 0 – реакция отсутствует, 1 – ослаблена, 2 – нормальная, 3 – повышена, 4 – гипертрофированная. В качестве тактильно-болевого стимула применяли шипок дистальной части хвоста пинцетом. Звуковую стимуляцию осуществляли стандартным сигналом (шелчок) средней интенсивности (ок. 75 ДБ), что вызывает у интактных животных кратковременный фризинг. Это позволяет выявлять как усиление реакции (вытягивание задних конечностей, сгибание передних конечностей, выгибание спины), так и ее ослабление (сокращение круговой мышцы глаза) и тестировать животных без использования дополнительного звукоизолирующего оборудования.

При оценке мышечного тонуса определяли атонию (0 баллов), сниженный (1 балл), нормальный (2 балла) и повышенный – ригидность мышц – тонус (3 балла).

Степень открытия глаза ранжировали следующим образом: 0 баллов – глаз закрыт, 1 – прикрыт веком, 2 – открыт полностью. Состояние зрачка (1 балл – мидриаз, 2 – нормальный размер, 3 – миоз) и зрачковый рефлекс (0 – отсутствует, 2 – нормальный) определяли, используя монокулярный прямой офтальмоскоп Piccolight E56 и затемняющий экран.

Тестирование животных в «открытом поле» (площадка из матового пластика размером 60x60 см с бортами высотой 20 см, размеченная на 16 квадратов 15 x 15 см, из них 4 – центральные) проводили в течение 3-х минут при умеренном рассеянном освещении (350 люкс). Меньшие размеры поля и интенсивность освещения, в сравнении с традиционно применяемой модификацией метода [40], применены для снижения стрессовой нагрузки на животных в ходе эксперимента.

Результаты исследования обрабатывали с использованием критерия Стьюдента для непрерывных и дискретных данных и критерия Манна-Уитни для описательных, бинар-

ных и ранговых показателей при уровне значимости $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Осмотр интактных животных показал отсутствие сенсомоторных нарушений – аудиомоторная реакция проявлялась фризингом (2 балла). В ответ на тактильно-болевого стимул животные отдергивали хвост и поворачивали голову к источнику раздражения (2 балла), на приближение и касание реагировали активными целенаправленными движениями без проявлений агрессии (2 балла). Мышечный тонус был также в пределах нормы – конечности и брюшная стенка были упругими на ощупь (2 балла). Симптомов патологического состояния животных не выявлено. По данным офтальмоскопического обследования – глаза открыты полностью (2 балла), диаметр зрачка – 1,5-2 мм, зрачковый рефлекс выражен (2 балла), патологии глаз не выявлено. В «открытом поле» установлено отсутствие латентного периода движения, нарушений координации, дефекации, груминга. Горизонтальная активность составляла $51,2 \pm 1,9$, в том числе в центральной зоне – $4,8 \pm 0,6$ кв., вертикальная – $8,0 \pm 1,1$ стоек, латентный период движения, дефекация и груминг у животных в «открытом поле» не наблюдались.

При воздействии ХП в дозе 16 мг/кг симптомы интоксикации были зарегистрированы в интервале 30-240 мин, с максимальными проявлениями через 60 и 120 мин (табл. 3). Выявлен широкий спектр изменений состояния животных – снижение аудиомоторной реакции, тактильно-болевого чувствительности, реакции на приближение и касание, мышечного тонуса и степени открытия глаз, а также мидриаз при сохраненном зрачковом рефлексе. Наблюдалось снижение общей активности животных (СА), сгорбленная поза (СП), стереотипия (жевательные движения) (СТ), сонливость (положение лежа, временная активность при прикосновении) (ПЛ), непровольная вокализация при касании (ВОК), в одном случае – усиление урикации (У). Наблюдения в «открытом поле» в период 120-240 мин (табл. 4) показало наличие латентного периода движения (ЛП) длительностью 2-4 секунды у 4 из 5 животных данной группы, выраженное снижение двигательной активности – горизонтальной (на 86 %, $p<0,05$) и вертикальной (на 80 %, $p<0,05$), нарушений координации движений не выявлено, дефекация и груминг отсутствовали.

ХП в дозе 8 мг/кг вызывал у крыс изменения показателей, в период от 30 до 240 мин как и при введении высшей дозы. Наблюдавшиеся при этом снижение аудиомоторной реакции,

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

Таблиця 3

**Частота изменений показателей батареи КФТ в динамике после внутрижелудочного введения
хлорпромазина в концентрациях 8 мг/кг и 16 мг/кг ^a**

Показатель	Баллы	ХП, 8 мг/кг						ХП, 8 мг/кг						
		Время исследования, час												
		1/4	1/2	1	2	4	24	1/4	1/2	1	2	4	24	
Аудиомоторная реакция	0													
	1			3	3				5*	5*	5*	3		
	2													
	3													
	4													
Тактильно-болевая чувствительность	0										1			
	1			2	1				5*			3		
	2													
	3													
	4													
Реакция на приближение и касание	0				1									
	1		3	3	2	5*			4*	5*	5*	5*		
	2													
	3													
	4													
Мышечный тонус	0													
	1			2	4*	5*			5*	5*	5*	4*		
	2													
	3													
Клинические симптомы	СА		3	5*					3	1	5*	3		
	СП								3		3			
	ПМ								1					
	ПЛ									4*	1			
	СТ								2					
	ВОК										5*			
	У											1		
Степень открытия глаза	закрыт	0												
	прикрыт	1		1	2				2	4*	3	3		
	открыт	2												
Состояние зрачка	мидриаз	1								4*	2			
	норма	2												
	миоз	3												

Примечания: ^a- в таблице приведено количество животных в группе из 5 особей, показатели которых были отличными от контроля; * – $p < 0,05$.

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

Таблиця 4

**Показатели поведения самок крыс в «открытом поле»
при действии хлорпромазина в дозах 8 и 16 мг/кг ($M \pm m$, $n=5$)**

Группа	Двигательная активность			ЛП, сек.	Дефекация, бол.	Груминг, сек.
	ГА, кв.		ВА, стойки			
	общая	в центральной зоне				
интактные	51,2±1,9	4,8±0,6	8,0±1,1	0,0	0,0	0,0
ХП, 8 мг/кг	24,6±1,7*	1,8±0,6*	5,2±0,9	0,0	0,0	0,0
ХП, 16 мг/кг	7,0±1,9*	1,4±1,1*	1,6±0,9*	2,4±0,9*	0,0	0,0

Примечание: * – $p < 0,05$

тактильно-болевого чувствительности, реакции на приближение и касание, снижение мышечного тонуса по частоте, силе проявления и длительности были менее выраженными в сравнении с группой животных, получавших ХП в большей дозе. Состояние животных характеризовалось СА через 30 и 60 мин., ПЛ, СТ и ВОК не наблюдались. Двигательная активность в «открытом поле» была снижена – горизонтальная на 52 % ($p < 0,05$), вертикальная – на 35 % ($p > 0,05$). Латентный период движения, дефекации, груминг отсутствовали.

Как известно, действие ХП характеризуется выраженным седативным эффектом, который сочетается с угнетением двигательных оборонительных рефлексов, уменьшением спонтанной двигательной активности, расслаблением скелетной мускулатуры, понижением реактивности [41, 42].

Наблюдаемые изменения состояния животных при действии максимальной исследованной дозы ХП (16 мг/кг) отражают выраженное снижение показателей двигательной активности в «открытом поле», угнетение сенсомоторных реакций, снижение мышечного тонуса, нарушение поведения (непроизвольная вокализация), мидриаз при сохранении зрачкового рефлекса.

По характеру и длительности выявленные изменения соответствуют данным литературы о фармакодинамике и кинетике ХП в высоких дозах [43, 44]. Выявляемые изменения имели дозозависимый характер. При действии ХП в

дозе 8 мг/кг характерное снижение двигательной активности в «открытом поле», угнетение сенсомоторных реакций, снижение мышечного тонуса, а также длительность выявляемой симптоматики были ниже, чем при действии большей дозы.

Выводы

1. Батарея КФТ является эффективным инструментом оценки клинического состояния и неврологического статуса животных в токсикологическом и фармакологическом исследованиях.

2. Экспериментально показана специфичность и чувствительность батареи КФТ для диагностики угнетающего воздействия на нервную систему крыс при внутрижелудочном введении крысам-самкам известного нейротропного препарата – хлорпромазина в дозах 8 и 16 мг/кг.

3. Хлорпромазин в дозе 16 мг/кг вызывает статистически значимое ($p \leq 0,5$) снижение сенсомоторных реакций, мышечного тонуса, сонливость, вокализацию при касании, мидриаз, появление латентного периода начала движения, снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности в «открытом поле» в период 30-240 мин после введения. В дозе 8 мг/кг установлено снижение реакции на приближение и касание, мышечного тонуса, горизонтальной двигательной активности в период 60-240 мин после введения.

ЛИТЕРАТУРА

- Ross J.F. Expanded clinical observations in toxicity studies: Historical perspectives and contemporary issues / J.F.Ross, J.L Mattsson., A.S. Fix // Regul. Toxicol. Pharmacol. – 1998. – № 28. – P. 17–26.
- Moser V. C. The functional observational battery in adult and developing rats. / V. C. Moser // Neurotoxicology. – 2000. – № 21(6). – P. 989–996.
- Pesticide assessment guidelines, subdivision F. Hazard evaluation: human and domestic animals. Addendum 10: Neurotoxicity, series 81, 82, and 83. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC. EPA. – 1991. – 120 p.
- Irwin S. Comprehensive observational assessment: A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physio-

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

- logic state of the mouse /S.Irwin // Psychopharmacologia .– 1968.–№ 13.– P. 222–257.
5. Moser V.C. Observational batteries in neurotoxicity testing / V.C. Moser // Int. J.Toxicol. – 2000. –№ 19. –P. 407–411.
 6. McDaniel K. L. Utility of a neurobehavioral screening battery for differentiating the effects of two pyrethroids, permethrin and cypermethrin / K. L.McDaniel and V. C. Moser //Neurotoxicol. Teratol. – 1993. – № 15.– P. 71–83.
 7. Neurobehavioral Assessments of Rats Perinatally Exposed to a Commercial Mixture of Polychlorinated Biphenyls / P.J.Bushnell, V.C.Moser, R.C.MacPhail [et al.]/ Toxicological Sciences.– 2002.– № 68. – P. 109–120.
 8. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование / А.В.Амикишиева // Вестник ВОГ и С.– 2009.–Т.13, №3.–С. 529–542.
 9. Crawley J.N. Behavioral phenotyping of rodents /J.N.Crawley //Comp.Med. – 2003. –№ 53. – P.140–146.
 10. Principles for Evaluating Chemical the Environment. National Academy Press, Washington, DC. –1975. – 454 p.
 11. Environmental Protection Agency(U.S.EPA) Health effects Guidelines. Neurotoxicity screening battery U.S.EPA, Washington, EPA 712-C-98-238 OPPTS 870.620. – 1998. – 13 p.
 12. Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients Redbook 2000,Chapter IV.C.10. Neurotoxicity Studies [Електронний ресурс]. URL:<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm078323.htm>.
 13. International Conference on Harmonization Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals ICH S7A. International conference on harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Geneva. July 2001 [Електронний ресурс]. URL: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecompliance/regulatoryinformation/guidances/ucm074959.pdf>.
 14. Moser V.C. Comparison of chlordimeform and carbaril using a functional observational battery /V.C. Moser, B.M.Cheek, R.C.MacPhail //Fundam. Appl. Toxicol. –№ 11. – P. 189–206.
 15. An original method to interpret neurobehavioral data generated by the Irwin test in the mouse / P. De Ron, A. Delanois, E. Hanon [et al.] // Proceedings of Measuring Behavior 2008, 6th International Conference on Methods and Techniques I Behavior Research Maastricht, The Netherlands August 26–29, 2008. – P. 326.
 16. A method for the routine assessment of fore- and hindlimb grip strength of rats and mice / O. A.Meyer , H. A.Tilson, W. C.Byrd, M. T. Riley // Neurobehav. Toxicol. – 1979. – № 1. – P. 233–236.
 17. Edwards P.M. A simple, sensitive, and objective method for early assessment of acrylamide neuropathy in rats / P. M.Edwardsand V. H. Parker // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 1977. – № 40. – P. 589–591.
 18. Deacon R.M.J. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R.M.J. Deacon // Nature Protocols. – 2006.– № 1(2).– P. 936–946.
 19. Work shop overview EPA's Neurotoxicity risk Assessment Guidelines/ W.K. Boyes, M.L. Dourson, J.Patterson [et al.]/Fundamental and Applied toxicology/ – 1997. – № 40. –P. 185–184.
 20. Moser V.C. Application of a neurobehavioral screening battery / V.C.Moser // J.Am.Coll. Toxicol. – 1992. –№ 10(6). – P. 661–669.
 21. Comparison of methods for the assessment of locomotor activity in rodent safety pharmacology studies / J.J. Lynch III, V. Castagné, P.C. Moser, S.W. Mittelstadt // J.Pharmacol. Toxicol. Methods. – 2011. – № 64(1). – P. 74–80.
 22. Milani H. Analysis of recovery from behavioral asymmetries induced by unilateral removal of vibrissae, in the rat / H.Milani, H.Steiner, J.P. Huston // Behav. Neurosci. – 1989. – № 103. – P. 1067–1074.
 23. Whishaw I.Q. Path integration absent in scenttracking fimbria-fornix rats: Evidence for hippocampal involvement in "sense of direction" and "sense of distance" using self-movement cues / I.Q.Whishaw, B.Gorny // J. Neurosci. –1999.– №19. – P. 4662–4673.
 24. Simon P. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions / P.Simon, R.Dupuis, J.Costentin // Behav. Brain.Res. –1994. – № 61.– P. 69–64.
 25. File S.E. What can be learned from the effects of benzodiazepines on exploratory behavior? / S.E. File // Neurosci. Biobehav.Rev. –1985. – №9. – P.45–54.
 26. The effects of reversible inactivations of the hippocampus on exploratory activity and spatial memory /C. Thinus-Blanc, E. Save, B. Poucet, M.C. Buhot // Hippocampus. – 1991.– № 1.– P. 365–371.
 27. Evaluation of effect profiles: Functional Observational Battery outcomes / J.S. Baird, P.J. Catalano, L.M. Ryan, J.S. Evans // Fundam Appl Toxicol. – 1997. – № 40(1). –P. 37–51.
 28. Ross J.F. ECOs, FOBs, and UFOs: Making Sense of Observational Data / J. F. Ross // Toxicologicalpathology.– 2000.– V. 28.– P. 132–136.
 29. Tupper D.E. Utility of the neurological examination in rats / D. E. Tupper, R. B. Wallace // Acta Neurobiol. ELW. – 1980 – № 40. – P. 999–1003.
 30. Analyses of Neurobehavioral Screening Data I: Dose-Time-Response Modeling of Continuous Outcomes / Y.Zhu, M.R. Wessel, T. Liu, V.C. Moser // Regulatory and Applied Toxicology. – 2005. – № 41. – P. 240–255.
 31. ICH Topic S 5 (R2)Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility Note for guidance on the detection of toxicity to reproduction for medicinal products & toxicity to male fertility (CPMP/ICH/386/95) European Medicines Agency, March 1994 – [Електронний ресурс]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002809.pdf
 32. Moser V.C. Functional Assays for Neurotoxicity Testing / V. C. Moser// Toxicologic Pathology . – 2011. – № 39. – P. 36–45.
 33. Kulig B.M. Comprehensive neurotoxicity assessment / B.M. Kulig // Environ. Health. Perspect. – 1996.– № 104 (Suppl. 2). – P. 317–322.
 34. Mattsson J.L. A performance standard for clinical and functional observational battery examinations of rats / J. L.Mattsson, P. J. Spencer, R. R. Albee, // J. Am. Coll. Toxicol. – № 15. – P. 239–254.
 35. An optimised methodology for the neurobehavioural assessment in rodents. E. Moscardo, A.Maurin, R.Dorigatti [et al.]/ J. Pharmacol. Toxicol. Methods. – 2007. – № 56. – P. 239–255.
 36. OECD Series on Testing and Assessment Number 20 Guidance Document for Neurotoxicity Testing. ENV/JM/MONO (2004)25. – 67 p.
 37. OECDTG № 424 Neurotoxicity Study in Rodents(1997).– 15 p.
 38. OECD Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluations, ENV/JM/MONO (2000)7. – 39 p.
 39. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації). – Київ, 2001.– 527 с.

**ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.
МЕХАНІЗМИ ІНТОКСИКАЦІЙ**

40. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон, М.: Высш. шк., 1991. – 399 с.
41. Allen H.Y. Monograph for UKPID. Chlorpromazine hydrochloride/ H.Y. Allen, Z.M. Everitt, A.T. Judd // [Електронний ресурс]. URL: <http://www.inchem.org/documents/ukpids/ukpids/ukpid20>.
42. Nsimba S.E. Effects of daily chlorpromazine administration on behavioural and physiological parameters in the rat /S.E. Nsimba // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 2009 .– 53(3).– P. 209–218.
43. Neurobehavioral Assessment Of Six Neurotoxicants In Male Sprague-Dawley Rats / K. Steinmetz, L.Rausch, A.Robb[et al.] // Toxicol Sci.– 2005.– N 84(1-S). –P. 224.
44. Bickel M.H. Distribution of chlorpromazine and imipramine in adipose and other tissues of rats. / M.H. Bickel, B.E. Graber, M. Moor // Life Sci. – 1983 .–V. 33 № 20. – P. 2025–2031.

БАТАРЕЯ КЛІНІКО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН У ТОКСИКОЛОГІЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ЇЇ ЕФЕКТИВНОСТІ

М.Л.Зінов'єва, П.Г.Жмінко

РЕЗЮМЕ. У статті висвітлено основні переваги та критичні точки методичних підходів щодо оцінки клінічного стану та неврологічного статусу тварин у токсикологічному та фармакологічному дослідженнях, що проводяться з регуляторними цілями. Надано експериментальне підтвердження специфічності та чутливості батареї клініко-функціональних тестів для щурів при внутрішньошлунковому введенні нейротропного препарату – хлорпромазину в дозах 8 і 16 мг/кг.

Ключові слова: клінічні симптоми, нейротоксичність, хлорпромазин

FUNCTIONAL OBSERVATIONAL BATTERY FOR LABORATORY ANIMALS IN TOXICOLOGICAL RESEARCH AND ITS EFFICACY EXPERIMENTAL EVALUATION

M. Zinovieva, P. Zhminko

SUMMARY. Essential benefits and critical points of approaches to physical condition and neurological state of laboratory animals in toxicological and pharmacological research conducted with a regulatory purposes are reviewed in the article. Specificity and sensibility of the implemented functional observational battery for rats, exposed to reference neurotropic substance – chlorpromazine given orally in doses 8, and 16 mg/kgis demonstrated.

Key words: clinical signs, neurotoxicity, chlorpromazine.

Надійшла до редакції 11.04.2016 р.