

УДК 623.459.44 : 577.3

Фармакокинетический подход к оценке общетоксического действия малых доз иприта и люизита

Доктор медицинских наук, профессор **В. Р. Рембовский**, кандидат медицинских наук **В. И. Попович**,
кандидат биологических наук **О. М. Антонова**, кандидат технических наук **В. Н. Тареев**

Кожно-нарывные отравляющие вещества, обладающие алкилирующим действием, способны нарушать процессы энергоснабжения клеток [1, 2]. Из ферментов к иприту наиболее чувствительна гексокиназа, ингибирование которой приводит к блокаде образования продуктов гликолиза и нарушению процесса потребления и переноса энергии в клетках. Общеядовитое действие люизита также проявляется в нарушении метаболизма углеводов [3], что в свою очередь обусловлено способностью люизита взаимодействовать с меркаптогруппами дигидролипоевой кислоты, связанной с пируватоксидазой [1, 3]. Исключение этого фермента из участия в окислительно-восстановительных процессах также, как и в случае иприта, приводит к глубоким нарушениям энергоснабжения всех органов и тканей организма.

Существенные изменения метаболических процессов и в особенности детоксикационной функции печени при отравлении ипритом и люизитом предопределяют применимость фармакокинетического подхода к оценке действия малых доз этих токсикантов.

Для проверки эффективности фармакокинетического метода в указанных целях были проведены токсикологические исследования на белых нелинейных крысах (0,18—0,30 кг). Опытные группы состояли из 6—8 животных. Изучали токсикологический эффект от ингаляционного и кожно-резорбтивного воздействия иприта и люизита в дозах, соответствующих 0,1 LD₅₀ (для иприта 2,7 мг/кг, люизита 1,6 мг/кг) и 0,1 LC₅₀ (для люизита 0,32 мг·мин/л), при температуре 20—24 °С, относительной влажности окружающего воздуха 40—80%.

В качестве фармакологического зонда использовали ГАМК-миметик — карбамазепин, который трансформируется монооксигеназной системой и относится к лекарственным противосудорожным средствам [4].

В норме у животных определяли фармакокинетические параметры карбамазепина при его внутрибрюшинном введении в дозе 20 мг/кг. Концентрацию карбамазепина изме-

ряли в плазме крови. Пробу крови отбирали из подъязычной вены через 1, 2, 4, 7 ч после внутрибрюшинного введения карбамазепина. По истечении двух недель особей этой же группы подвергали воздействию отравляющего вещества и определяли фармакокинетические параметры карбамазепина при его повторном введении в разные сроки интоксикации в течение двух месяцев.

В контрольной группе лабораторных животных, не подвергавшихся воздействию отравляющего вещества, определяли фармакокинетические параметры фармакологического зонда в те же сроки, что и при обследовании опытных животных.

Идентификацию и количественное определение карбамазепина в плазме крови крыс проводили методом жидкостной хроматографии на хроматографе «Милихром-1». На основании полученных результатов с использованием метода статистических моментов рассчитывались интегральные модельно-независимые фармакокинетические параметры: AUC — площадь под кривой «концентрация—время» для лекарственного препарата; Cl_{po} — общий клиренс; K_{el} — константа элиминации препарата; t_{1/2} — период полуэлиминации препарата; MRT_{po} — среднее время удержания препарата в организме; V_z — кинетический объем распределения препарата.

Опыты проводились в соответствии с планом полного факторного эксперимента для двухуровневых факторов [5]. Для уменьшения погрешности при определении средних эффективных доз оптимизация групп осуществлялась по методу итеративного улучшения границ. Кластеризация выполнялась для заданного количества групп, начиная с трех. Для разграничения состояний «норма»—«поражение» использовали метод линейных дискриминантных функций с применением решающего правила Фишера.

Результаты исследований вариабельности фармакокинетических параметров карбамазепина для контрольной группы животных приведены в табл. 1. Данные таблицы

показывают, что в течение всего периода наблюдений в контрольной группе животных достоверных изменений фармакокинетических параметров не наблюдается.

Результаты исследований динамики фармакокинетических параметров карбамазепина после воздействия люизита представлены в табл. 2.

В случае ингаляционного воздействия отравляющего вещества в пороговой дозе обнаруживается повышенное содержание карбамазепина в сыворотке крови по сравне-

нию с контролем на 2—7 сут. люизитной интоксикации.

Характер выявленных изменений косвенно свидетельствует о снижении уровня функционирования монооксигеназной системы и повышении проницаемости гистогематических барьеров (увеличение параметров V_z , MRT_{po}).

При накожной аппликации люизита наблюдается несколько иная динамика фармакокинетических параметров. Показатель AUC снижается по сравнению с контролем и восстанавливается лишь на 60 сут. Примерно таким же

Таблица 1

Динамика фармакокинетических параметров карбамазепина в контрольной группе белых нелинейных крыс.

Пробы крови для анализа отбирали через 0,1; 2; 7; 30 и 60 сут. после введения карбамазепина

Сроки наблюдения, сут.	Фармакокинетические параметры $x \pm Sx$					
	AUC, (мкг \cdot ч)/мл	$Cl_{po} \cdot 10^{-3}$, л/ч	$K_{el} \cdot 10^{-2}$, 1/ч	$t_{1/2}$, ч	MRT_{po} , ч	$V_z \cdot 10^{-3}$, л
0,1	714,4 \pm 69,0	5,9 \pm 0,52	18,4 \pm 2,9	4,21 \pm 0,62	6,33 \pm 0,91	34,4 \pm 5,0
2	749,4 \pm 72,1	5,5 \pm 0,39	15,0 \pm 1,4	4,82 \pm 0,46	6,87 \pm 0,62	37,8 \pm 4,4
7	732,9 \pm 60,2	5,6 \pm 0,41	19,1 \pm 2,5	4,05 \pm 0,68	6,21 \pm 0,97	31,1 \pm 2,6
30	707,2 \pm 48,2	5,8 \pm 0,39	16,4 \pm 1,9	4,62 \pm 0,65	6,79 \pm 0,96	37,5 \pm 4,5
60	708,7 \pm 47,2	5,7 \pm 0,43	18,4 \pm 1,8	3,99 \pm 0,43	6,08 \pm 0,61	32,3 \pm 2,1

Таблица 2

Динамика фармакокинетических параметров карбамазепина у белых крыс после воздействия люизита

Сроки наблюдения, сут.	Фармакокинетические параметры $x \pm Sx$						
	AUC, (мкг \cdot ч)/мл	C_{max} , мкг/мл	$Cl_{po} \cdot 10^{-3}$, л/ч	$K_{el} \cdot 10^{-2}$, 1/ч	$t_{1/2}$, ч	MRT_{po} , ч	$V_z \cdot 10^{-3}$, л
Ингаляционное воздействие							
Контроль	803,0 \pm 153,0	120,0 \pm 7,2	5,9 \pm 1,0	20,3 \pm 3,0	4,0 \pm 0,88	6,3 \pm 1,25	29,0 \pm 2,0
2	1269,3 \pm 273,3	131,8 \pm 6,8	4,1 \pm 0,9	14,7 \pm 3,3	6,7 \pm 1,89	10,2 \pm 2,75	29,5 \pm 2,7
7	1191,2 \pm 160,7	112,3 \pm 9,2	3,6 \pm 0,5	9,7 \pm 1,2*	7,5 \pm 0,86*	11,4 \pm 1,23*	37,3 \pm 2,5*
30	740,1 \pm 158,4	97,3 \pm 11,5	6,5 \pm 1,3	19,4 \pm 4,3	4,6 \pm 1,24	7,2 \pm 1,75	35,4 \pm 3,7
60	495,0 \pm 49,6	94,0 \pm 5,2*	8,4 \pm 0,9	23,3 \pm 3,5	3,3 \pm 0,49	5,2 \pm 0,75	37,3 \pm 2,2*
Накожная аппликация							
Контроль	750,1 \pm 135,1	135,5 \pm 14,2	12,9 \pm 6,0	24,8 \pm 5,2	4,5 \pm 1,80	6,8 \pm 2,46	31,2 \pm 5,7
2	470,1 \pm 115,8	75,7 \pm 8,6*	12,2 \pm 3,0	27,2 \pm 6,2	3,8 \pm 1,16	6,1 \pm 1,61	47,9 \pm 6,4
7	424,1 \pm 60,8	114,0 \pm 18,0	10,9 \pm 2,2	28,3 \pm 3,5	4,2 \pm 0,56	4,2 \pm 0,56	39,5 \pm 6,6
30	387,4 \pm 83,7*	96,6 \pm 12,8	12,3 \pm 2,0	26,3 \pm 3,2	2,9 \pm 0,50	4,3 \pm 0,76	46,2 \pm 4,8
60	742,4 \pm 103,6	130,7 \pm 9,5	6,0 \pm 0,8	17,0 \pm 2,6	4,6 \pm 0,68	6,9 \pm 1,03	35,7 \pm 1,9

* Статистически достоверные различия с контролем при $P < 0,05$.

Таблица 3

Фармакокинетические параметры карбамазепина у белых крыс после накожной аппликации иприта

Сроки наблюдения, сут.	Фармакокинетические параметры $\bar{x} \pm Sx$						
	AUC, (мкг·ч)/мл	C_{max} , мкг/мл	$Cl_{po} \cdot 10^{-3}$, л/ч	$K_{el} \cdot 10^{-2}$, 1/ч	$t_{1/2}$, ч	MRT _{po} , ч	$V_z \cdot 10^{-3}$, л
Контроль	809,7±85,9	190,2±22,5	5,5±0,8	24,9±3,3	3,2±0,48	5,03±0,70	23,5±3,6
7	515,6±41,3*	114,9±7,5*	8,2±0,7*	24,5±2,1	2,9±0,24	4,73±0,35	34,0±2,7*

* Статистически достоверные различия с контролем при $P < 0,05$.

образом изменяется максимальная концентрация карбамазепина, содержащегося в крови подопытных животных. Показатели клиренса и K_{el} практически не изменяются на протяжении всего периода наблюдения. Лишь динамика кинетического объема распределения совпадает с таковой при ингаляционном воздействии люизита.

Можно полагать, что при накожном воздействии люизита, в отличие от ингаляционного эффекта, происходит индукция монооксигеназной системы, о чем свидетельствует повышение содержания метаболитических компонентов карбамазепина.

В то же время мембранотоксическая компонента выражена в меньшей степени.

Примерно такая же направленность изменений фармакокинетических показателей выявлена при накожном воздействии пороговых доз иприта (табл.3). Здесь можно отметить существенное повышение значения клиренса, что, по-видимому, связано со стимуляцией выделения карбамазепина из организма.

Комбинированное действие иприта и люизита через

кожные покровы характеризуется существенным повышением AUC, C_{max} и резким снижением клиренса карбамазепина, при этом константа элиминации практически не изменяется (табл. 4). Уменьшается кинетический объем распределения фармакологического зонда.

Для выявления закономерностей эффекта пороговых доз иприта и люизита при комбинированном кожно-резорбтивном воздействии эксперименты проводили, как уже отмечалось выше, в соответствии с планом полного факторного эксперимента для двухуровневых факторов. В качестве откликов рассчитывали интегральные показатели состояния организма методом дискриминантного анализа по комплексу параметров, определенных с помощью фармакологического зондирования. Состояния «норма»—«поражение» разграничивали на основании выборок, состоящих соответственно из 20 и 18 наблюдений, и отбирали наиболее информативный комплекс показателей, использование которого дает минимальный процент ошибочных решений при разделении указанных состояний.

Таблица 4

Фармакокинетические параметры карбамазепина у белых крыс на 7 сут. после комбинированного кожно-резорбтивного воздействия люизита и иприта

Сроки наблюдения, сут.	Фармакокинетические параметры $\bar{x} \pm Sx$						
	AUC, (мкг·ч)/мл	C_{max} , мкг/мл	$Cl_{po} \cdot 10^{-3}$, л/ч	$K_{el} \cdot 10^{-2}$, 1/ч	$t_{1/2}$, ч	MRT _{po} , ч	$V_z \cdot 10^{-3}$, л
Контроль	571,6±44,6	136,4±14,3	7,3±0,6	19,7±3,2	4,1±0,6	6,1±0,8	42,0±5,3
7	1309,8±241,0*	200,4±17,5*	3,8±0,8*	16,0±4,6	6,1±1,4	8,8±1,9	26,2±3,0*

* Статистически достоверные различия с контролем при $P < 0,05$.

Выборка «поражение» включала наблюдения эффектов кожно-резорбтивного действия люизита, иприта и их совместного действия. Лучшие результаты при классификации состояний получены по комплексу из шести показателей. Разграничительную функцию можно записать следующим образом:

$$Z = 0,00023 \cdot AUC - 0,00132 \cdot C_{\max} - 1,761 \cdot Cl_{po} + 0,565 \cdot t_{1/2} - 0,06195 \cdot MRT_{po} + 0,642 \cdot Vz \quad (1)$$

Уравнение значимо по критерию Фишера, ошибочные решения составляют 21%.

В соответствии с приведенным уравнением рассчитаны средние значения отклика для каждого опыта плана эксперимента. Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

План эксперимента и соответствующие значения откликов Y.

Факторы X₁ и X₂ — кожно-резорбтивное действие люизита и иприта; «1» — соответствует дозе 0,1 LD₅₀, «-1» — отсутствие действующей дозы

№ опыта	X ₁	X ₂	Y
1	1	1	0,1254
2	-1	1	0,1490
3	1	-1	0,1454
4	-1	-1	0,1858

На основании анализа представленных в табл. 5 результатов исследований получено уравнение для оценки зависимости отклика от величин действующих токсодоз:

$$Y = 0,1513 - 0,0114 \cdot X_1 - 0,0159 \cdot X_2 + 0,0042 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (2)$$

Модель адекватна по критерию Фишера.

В уравнении (2) значимы коэффициенты при X₁, X₂. Коэффициент при факторе взаимодействия

незначим (так как он меньше величины доверительного интервала 0,011) и соответствующий член (при ортогональном планировании) может быть исключен из уравнения без пересчета остальных коэффициентов.

В рамках модели (2) можно утверждать, что комбинированное кожно-резорбтивное воздействие иприта и люизита в дозах 0,1LD₅₀ приводит к аддитивности токсикологических эффектов.

Использование карбамазепина в качестве фармакологического зонда позволяет выявить нарушения процессов метаболизма в организме экспериментальных животных в условиях воздействия низких доз иприта и люизита. Направленность изменений фармакокинетических параметров карбамазепина отражает состояние процессов детоксикации и проницаемости гистогематических барьеров и зависит от дозы и путей поступления отравляющего вещества в организм. При комбинированном воздействии иприта и люизита в дозах 0,1 LD₅₀ через незащищенные кожные покровы имеет место аддитивность токсикологических эффектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. М.: Военное изд-во, 1990, 268 с.
2. Военная токсикология, радиология и медицинская защита. Под ред. Н.В. Саватеева. Л.: Воен. мед. академия. 1978, 334 с.
3. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. М.: Мир. 1966, 814 с.
4. Мартынова Л.А., Пузин М.Н., Селезнев А.Н. Ж. невропатологии и психиатрии, 1989, т. 89, вып. 10, с. 145—148.
5. Новик Ф.С., Арсов Я.Б. Оптимизация процессов технологии металлов методами планирования экспериментов. М.: Машиностроение. 1980, 303 с.