

УДК 615.3:616.94:546.289

ЛУКЬЯНЧУК В.Д.¹, ШЕЙМАН Б.С.², КРЫЛОВА Е.В.¹, БАБЕНКО М.Н.¹¹Кафедра фармакологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет»²Украинский центр детской токсикологии, интенсивной и эфферентной терапии НДСБ «Охматдет» МЗ Украины, г. Киев

ТОКСИКОКИНЕТИКА ДНОК ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО АНТИДОТА МИГУ-2

Резюме. В статье представлены результаты экспериментального исследования эффективности применения антидота МИГУ-2 при отравлении динитроортокрезолом (ДНОК), который используется в промышленности и сельском хозяйстве. На основании сравнительных параметров токсикокинетики и токсикодинамики ДНОК у экспериментальных животных в условиях использования антидота и без него сделан вывод об эффективности и детоксикационных свойствах МИГУ-2.

Ключевые слова: токсикокинетика, координационное соединение германия, МИГУ-2, динитроортокрезол.

Введение

Одной из приоритетных проблем медицины неотложных состояний является изучение механизмов формирования, лечения и предупреждения острой патологии химической этиологии. Многие химические вещества оказывают крайне неблагоприятное воздействие на процессы функционирования организма, вызывая глубокие патологические изменения. К таким веществам относятся, в частности, производные 2,4-динитрофенола (2,4-ДНФ) — динитроортокрезол (ДНОК), который используется в промышленности и сельском хозяйстве [2–5, 8].

Теоретической основой поиска и разработки новых фармакологических средств с антидотными свойствами, используемых при отравлениях ДНОК, послужили сведения о механизме его токсического действия, который заключается в разобщении процессов окислительного фосфорилирования. Кроме того, алкилпроизводные 2,4-ДНФ, являясь выраженными прогипоксантами, одновременно обладают и свойствами прооксидантов [4, 8]. В связи с этим поиск потенциальных средств детоксикации антидотного типа действия целесообразно проводить, с нашей точки зрения, среди оригинальных химических соединений, сочетающих свойства антигипоксантов и антиоксидантов.

Согласно данным литературы [9, 11–18] и результатам собственных исследований [15–17], координационные соединения германия с биолигандами различного химического строения обладают низкой токсичностью, высокой гепатопротекторной, мембранопротекторной и антигипоксантной активностью с уникальными фармакокинетическими характеристиками. Результаты проведенных нами ранее исследований показали, что высокой антидотно-ле-

чебной активностью при ДНОК-интоксикации обладает оригинальное координационное соединение германия с никотинамидом (лабораторный шифр МИГУ-2) [14].

На современном этапе создания новых лекарственных средств необходимым требованием доклинических исследований является определение параметров фармакокинетики потенциальных препаратов, включая антидоты. Вместе с тем в токсикологической практике хемобиокинетические исследования токсического агента служат критерием оценки антидотной эффективности препарата. В этом аспекте результаты токсикокинетических исследований изучаемого токсиканта представляются крайне необходимыми и актуальными.

Вышеизложенное предопределило цель настоящей работы — сравнительное исследование токсикокинетики ДНОК в «норме» и на фоне применения потенциального антидота МИГУ-2.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на белых нелинейных крысах массой 160–200 г обоих полов в полном соответствии с требованиями ГП «Государственный экспертный центр МЗ Украины» [10]. Экспериментальной моделью служил патологический процесс, развивающийся у животных при внутрижелудочном введении 1% водного раствора натриевой соли ДНОК в дозе, соответствующей среднесмертельной (LD_{50}).

© Лукьянчук В.Д., Шейман Б.С., Крылова Е.В.,
Бабенко М.Н., 2014

© «Медицина неотложных состояний», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

Все крысы были разделены на 2 группы: первая группа — контрольная, представлена животными, которым вводили ДНОК. Вторая группа — опытная, это животные с ДНОК-интоксикацией, получавшие МИГУ-2 в специально разработанном дозовом режиме (87,34 мг/кг за 48 мин до начала и 112,87 мг/кг через 5 мин после поступления яда в желудок) [14].

Количественное содержание ДНОК в крови определяли через 1, 6, 12 и 24 ч с момента его введения в организм [1].

Расчет токсикокинетических показателей ДНОК проводили с помощью разработанной компьютерной программы [7] в рамках двухчастевой модели с всасыванием с использованием методических приемов [19] на основе функции зависимости концентрации от времени в логарифмических координатах. Учитывая нормальность распределения экспериментальных данных и равенство дисперсий, полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента [6].

Рассчитывали следующие параметры: на этапе всасывания — константу скорости всасывания (K_{01}), период полуабсорбции ($t_{1/2,a}$), максимальную концентрацию препарата (яда) (C_{max}) и время ее достижения (t_{max}); на этапе распределения — объем распределения (V_d), период полураспределения ($t_{1/2}$), площадь под токсикокинетической кривой (AUC), кажущуюся начальную концентрацию (C_0); на этапе элиминации — константу скорости элиминации (K_{el}), период полуэлиминации ($t_{1/2,el}$), общий клиренс (Cl_T), среднее время пребывания яда в организме (MRT).

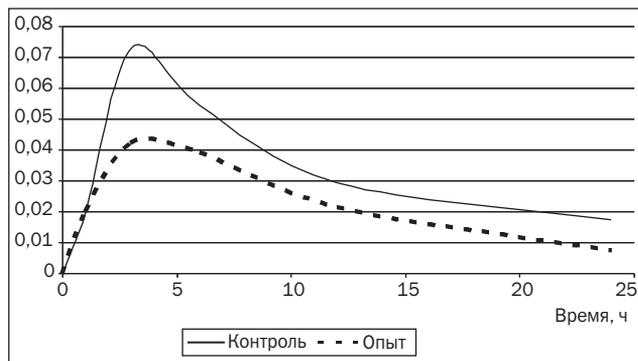


Рисунок 1. Токсикокинетика ДНОК при внутривенном введении без использования МИГУ-2 и на фоне его применения

Результаты и их обсуждение

На основании результатов определения концентрации ДНОК в крови в изучаемой динамике нами была построена кинетическая кривая (рис. 1), которая положена в основу расчета токсикокинетических параметров яда при применении потенциального антидота и без него.

Известно, что одним из ключевых этапов токсикокинетики ксенобиотиков является процесс их абсорбции из места внесосудистого введения в системный кровоток, от которого в значительной степени зависят скорость, характер и степень развития отравлений. В связи с этим на первом этапе исследования особое внимание уделялось расчету параметров, характеризующих процесс всасывания ДНОК в изучаемых условиях эксперимента (табл. 1).

Характеризуя этап всасывания яда у животных контрольной и опытной групп, следует обратить внимание на константу скорости всасывания (K_{01}) в сравнительном аспекте. Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что ДНОК без применения МИГУ-2 быстро поступает в системный кровоток и величина K_{01} составляет $3,01 \text{ ч}^{-1}$. В то же время на фоне введения МИГУ-2 исследуемый пестицид примерно в 2,5 раза медленнее всасывается в кровь.

Тесно связанный с K_{01} обратно пропорциональной зависимостью период полуабсорбции характеризует время, необходимое для поступления половины введенной дозы в системный кровоток. Так, если в контроле $t_{1/2,a}$ составляет 0,23 часа, то в опытной группе этот параметр увеличивается в 2,5 раза и составляет 0,57 часа.

Анализ величин C_{max} в обеих сравниваемых группах показывает, что у крыс контрольной группы этот параметр имеет сравнительно высокую величину — 73,02 мкг/мл, которая достигается уже через 3 часа от момента поступления яда в организм, что позволяет судить о достаточно малом латентном периоде развития ДНОК-интоксикации. В опытной же группе животных концентрация ДНОК снижается в 1,7 раза в сравнении с животными контрольной группы и составляет 42,4 мкг/л.

Следовательно, выявленные изменения в кинетике ДНОК в сторону замедления процесса всасывания указывают на способность потенциального антидота отдалять и уменьшать реализацию токсикодинамических эффектов ДНОК.

Не менее важным представляется характеристика распределения ДНОК под влиянием МИГУ-2 из

Таблица 1. Токсикокинетические параметры ДНОК на этапе его всасывания у животных в контроле и при применении МИГУ-2 (n = 7/8)

Параметры	Обозначение, размерность	Контроль	Опыт
Константа скорости абсорбции	$K_{01}, \text{ч}^{-1}$	$3,01 \pm 0,12$	$1,21 \pm 0,11^*$
Период полуабсорбции	$t_{1/2,a}, \text{ч}$	$0,23 \pm 0,07$	$0,57 \pm 0,05^*$
Максимальная концентрация препарата (яда)	$C_{max}, \text{мкг/мл}$	$73,02 \pm 12,14$	$42,40 \pm 3,95^*$
Время достижения максимальной концентрации	$t_{max}, \text{ч}$	3	3

Примечание: здесь и в табл. 2–4: * — $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой.

центральной камеры в периферические органы и ткани (табл. 2).

Как видно из табл. 2, величина V_d у контрольных животных в 1,4 раза превышает значения, идентифицированные в опытной группе, что свидетельствует о способности МИГУ-2 препятствовать депонированию ДНОК в организме.

Исходя из величины периода полураспределения, процесс поступления яда в периферическую камеру кинетической модели распределения в контроле занимает сравнительно короткий промежуток времени, что является немаловажным фактором, определяющим скорость наступления ДНОК-интоксикации и тяжесть клинических проявлений. Это также подтверждается величиной AUC, которая у животных без применения МИГУ-2 составляет $2535,4 \text{ мк} \cdot \text{ч} \cdot \text{мл}^{-1}$.

Введение же изучаемого антидота выгодно изменяет процессы перехода токсиканта в периферические камеры, о чем свидетельствует увеличение периода полураспределения ДНОК в 1,7 раза. Кроме того, под влиянием МИГУ-2 в 2,1 раза уменьшается величина AUC и в 1,7 раза — кажущаяся начальная концентрация.

Таким образом, анализ распределения ДНОК из центрального кровотока в периферические камеры демонстрирует, что лечебно-профилактическое введение МИГУ-2 значительно модифи-

цирует характер распределения и депонирования яда, что способствует снижению интенсивности его токсикодинамических эффектов и в конечном итоге уменьшает опасность возникновения ДНОК-интоксикации.

Учитывая центральную роль печени и почек в реализации токсического действия любого ксенобиотика, и ДНОК в том числе, было целесообразно изучить его кинетические процессы именно в этих органах (табл. 3).

Из полученных результатов следует, что ДНОК у животных контрольной группы достаточно интенсивно поступает в печень и почки, о чем свидетельствуют практически все изучаемые токсикокинетические параметры.

При применении же МИГУ-2 у крыс в условиях отравления ДНОК происходит значительная модификация всех изучаемых токсикокинетических параметров. Так, в частности, под влиянием МИГУ-2 происходит уменьшение поступления и накопления ДНОК за счет снижения величины C_{max} в печени и почках крыс. Также усиливается процесс исчезновения ДНОК из анализируемых органов вследствие практически 2-кратного увеличения в них экскреторно-элиминационных процессов (в 2 и 1,6 раза соответственно). Кроме того, при применении МИГУ-2 уменьшается среднее время пребывания яда в печени и почках с одновременным снижением

Таблица 2. Влияние МИГУ-2 на характер распределения ДНОК из центральной камеры в периферические ($n = 7/8$)

Параметры	Обозначение, размерность	Контроль	Опыт
Общий объем распределения	V_d , мл	$962,41 \pm 64,97$	$674,36 \pm 31,29^*$
Период полураспределения	$t_{1/2, \omega}$, ч	$5,90 \pm 0,65$	$9,77 \pm 0,51^*$
Площадь под токсикокинетической кривой	AUC, $\text{мк} \cdot \text{ч} \cdot \text{мл}^{-1}$	$2535,4 \pm 31,4$	$1188,00 \pm 22,36^*$
Кажущаяся начальная концентрация	C_0 , $\text{мкг}/\text{мл}$	$60,23 \pm 7,33$	$36,00 \pm 4,21^*$

Таблица 3. Влияние применения МИГУ-2 на токсикокинетические параметры ДНОК в печени и почках животных ($n = 7/8$)

Параметры	Обозначение, размерность	Печень		Почки	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Константа скорости абсорбции	K_{01} , ч^{-1}	$0,49 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,01^*$	$0,79 \pm 0,35$	$0,63 \pm 0,41$
Период полубабсорбции в орган	$t_{1/2, a}$, ч	$1,41 \pm 0,21$	$3,30 \pm 0,15^*$	$0,87 \pm 0,51$	$1,100 \pm 0,067$
Максимальная концентрация препарата (яда) в органе	C_{max} , $\text{мкг}/\text{мл}$	$23,51 \pm 2,51$	$15,21 \pm 1,31^*$	$18,31 \pm 2,31$	$15,24 \pm 1,54^*$
Время достижения максимальной концентрации	t_{max} , ч	12	12	6	6
Константа скорости элиминации	K_{el} , ч^{-1}	$0,11 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01^*$	$0,15 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,02^*$
Период полуэлиминации	$t_{1/2}$, ч	$6,30 \pm 0,54$	$3,15 \pm 0,46^*$	$4,62 \pm 0,37$	$2,89 \pm 0,31^*$
Площадь под токсикокинетической кривой	AUC, $\text{мк} \cdot \text{ч} \cdot \text{мл}^{-1}$	$251,17 \pm 15,61$	$164,38 \pm 12,36^*$	$253,46 \pm 18,76$	$214,36 \pm 15,34$
Среднее время пребывания в органе	MRT, ч	$9,01 \pm 0,74$	$4,55 \pm 0,39^*$	$6,67 \pm 0,55$	$4,17 \pm 0,51^*$

Таблица 4. Влияние МИГУ-2 на токсикокинетические параметры ДНОК на этапе его элиминации (n = 7/8)

Параметры	Обозначение, размерность	Контроль	Опыт
Константа скорости элиминации	K_{el} , ч ⁻¹	0,024 ± 0,008	0,031 ± 0,088*
Период полуэлиминации	$t_{1/2}$, ч	27,83 ± 2,04	22,36 ± 6,34*
Общий клиренс	Cl_T , мл/ч	42,97 ± 5,88	57,11 ± 3,28*
Среднее время пребывания в организме	MRT, ч	41,31 ± 2,54	32,25 ± 3,15*

его депонирования, о чем свидетельствует достоверное изменение площади под токсикокинетической кривой.

Следовательно, одной из составляющих антидотно-лечебной активности МИГУ-2 является его способность уменьшать скорость и количество поступившего яда в жизненно важные органы.

Наиболее важным этапом токсикокинетики является процесс элиминации из центральной камеры кинетической модели распределения (табл. 4).

Как следует из табл. 4, ДНОК имеет период полуэлиминации 27,83 ч⁻¹, что объясняется сравнительно длительной персистенцией яда в организме, в основном за счет липофильных депо в маловакуляризованных органах и тканях [4]. При этом скорость исчезновения ДНОК из организма без проведения фармакокоррекции довольно низкая, о чем свидетельствуют величины K_{el} и Cl_T . Слабая интенсивность процесса элиминации обуславливает длительное (41,31 ч) пребывание ксенобиотика в организме.

В группе животных, леченных МИГУ-2, процессы экскреции и элиминации ДНОК из крови крыс протекают в 1,3 раза интенсивнее, о чем свидетельствует увеличение константы скорости элиминации и, соответственно, уменьшение периода полуэлиминации. Более того, в условиях фармакотерапии МИГУ-2 скорость очищения центрального кровотока от яда увеличивается в 1,33 раза, а среднее время его пребывания в организме сокращается на 9 ч вследствие ускорения его выведения, снижения скорости и степени всасывания в системный кровоток.

Обсуждение полученных результатов

Обобщающий анализ полученных данных показывает, что ДНОК вследствие своей высокой липофильности активно всасывается в организм, где депонируется и длительное время персистирует. Это, вероятно, и является следствием поражения энергозависимых процессов почечной экскреции вследствие разобщения процессов окислительно-фосфорилирования, характерного для ДНОК [4, 8]. Применение с лечебно-профилактической целью МИГУ-2 формирует выгодные в плане детоксикации изменения токсикокинетики ДНОК, направленные на снижение его абсорбции в желудочно-кишечном тракте, скорости и степени поступления яда в паренхиматозные органы (печень и почки), а также ускоряет элиминацию яда из биосред.

Таким образом, одним из путей реализации детоксикационного действия МИГУ-2 при острой пероральной ДНОК-интоксикации является модификация всех этапов токсикокинетики яда, что значительно снижает степень его токсического воздействия на организм в целом и на жизненно важные биотрансформационные и экскреторные органы в частности.

Список литературы

1. Буркацкая Е.Н. Лабораторная диагностика интоксикаций пестицидами / Е.Н. Буркацкая, Г.Г. Лысина, В.Н. Карпенков. — М., 1978. — 232 с.
2. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов. — К.: Здоров'я, 1981. — 176 с.
3. Мельников Н.А. Пестициды: Химия, технология, применение. — М.: Химия, 1987. — 213 с.
4. Лукьянчук В.Д. Молекулярные основы механизма токсического действия и разработка принципов детоксикации динитрофенольных соединений: Автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.03.06. — К., 1988. — 42 с.
5. Трахтенберг И.М. Приоритетные аспекты проблем медицинской экологии в Украине (взгляд токсиколога) // Современные проблемы токсикологии. — 1998. — № 1. — С. 5-8.
6. Глац С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
7. Методические рекомендации по компьютерным расчетам фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели) / Н.Я. Головенко, В.Д. Лукьянчук, О.В. Жук [и др.]. — К.: Государственный научно-экспертный центр лекарственных средств, 1999. — 70 с.
8. Кравец Д.С. Токсикокинетика динитроортокрезолу в умовах профілактичного застосування силібору з ацетатом альфа-токоферолу: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.03.06. — К., 2001. — 20 с.
9. Кресюн В.Й. Сравнительная фармакокинетика новых координационных соединений с биоглиандами / В.Й. Кресюн, Е.Ф. Шемонаева, А.Г. Видавская // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. — 2002. — № 1. — С. 56-65.
10. Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. реком. / Под ред. чл.-корр. АМН Украины А.В. Стефанова. — К., 2002. — 567 с.
11. Шемонаева К.Ф. Фармакокинетика координаційних сполук германію з біогліандами: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.03.05. — Одеса, 2003. — 20 с.
12. Видавська Г.Г. Фармакокінетика нових біологічно активних речовин на основі оксіетилідендифосфонату германію з нікотиновою кислотою, нікотинамідом і магнієм: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.03.05. — Одеса, 2003. — 19 с.
13. Чадова Л.В. Скринінг і порівняльна оцінка ефективності протипіємічних засобів серед координаційних сполук германію з біогліандами при гострій цереброваскулярній недостатності / Л.В. Чадова, І.Й. Сейфулліна, В.М. Ткаченко // Одеський медичний журнал. — 2005. — № 6. — С. 19-22.
14. Лукьянчук В.Д. Разработка дозового режима германийорганического соединения МИГУ-2 на модели острой пероральной ДНОК-интоксикации / В.Д. Лукьянчук, М.Н. Бабенко, Д.С. Кравец // Современные проблемы токсикологии. — 2005. — № 1. — С. 47-50.

15. Скрининг потенциальных церебропротекторов в ряду новых координационных соединений германия с комплексами и гидроксикарбоновыми кислотами на модели тотальной ишемии головного мозга / В.Д. Лукьянчук, Е.В. Крылова, И.И. Сейфуллина [и др.] // Журнал экстремальной медицины им. Г.О. Можаява. — 2008. — Т. 9, № 4. — С. 123-126.

16. Особливості біотрансформації нового потенційного церебропротектора ВІТІН-1 у нормі та при церебральному ішемічному інсульті / О.В. Крылова, В.Д. Лук'янчук, В.Г. Ткаченко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2009. — № 3 (10). — С. 5-20.

17. Спектр розподілення координаційної сполуки германію з пірацетамом в організмі щурів в нормі та за умов ішемії головного мозку / В.І. Кресюн, В.Д. Лук'янчук, О.В. Крылова [та ін.] // Журнал АМН України. — 2010. — № 1. — С. 149-159.

18. Фармакокінетичний профіль МІГУ-5 в нормі та на моделі ендотоксемії / Лук'янчук В.Д., Лучишин Т.Р., Кравець Д.С. [та ін.] // Журнал АМН України. — 2012. — Т. 18, № 4. — С. 529-535.

19. Лук'янчук В.Д. Введення до загальної фармакокінетики: Навчальний посібник / В.Д. Лук'янчук, Д.С. Кравець. — Луганськ, 2013. — 115 с.

Получено 17.01.14 ■

Лук'янчук В.Д.¹, Шейман Б.С.², Крылова Е.В.¹, Бабенко М.Н.¹

¹Кафедра фармакології ДУ «Луганський державний медичний університет»

²Український центр дитячої токсикології, інтенсивної й еферентної терапії НДСЛ «Охматдит» МОЗ України, м. Київ

ТОКСИКОКІНЕТИКА ДНОК ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПОТЕНЦІЙНОГО АНТИДОТУ МІГУ-2

Резюме. У статті наведені результати експериментального дослідження ефективності застосування антидоту МІГУ-2 при отруєнні динітроортокрезолом (ДНОК), що використовується у промисловості й сільському господарстві. На підставі порівнянних параметрів токсикокінетики й токсикодинаміки ДНОК в експериментальних тварин в умовах застосування антидоту й без нього зроблено висновок про ефективність і детоксикаційні властивості МІГУ-2.

Ключові слова: токсикокінетика, координаційна сполука германію, МІГУ-2, динітроортокрезол.

Lukyanchuk V.D.¹, Sheyman B.S.², Krylova Ye.V.¹, Babenko M.N.¹

¹Department of Pharmacology of State Institution «Lugansk State Medical University», Lugansk

²Ukrainian Center for Pediatric Toxicology, Intensive and Efferent Therapy of National Children's Specialized Hospital «Mother and Child Healthcare» of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, Ukraine

TOXICOKINETICS OF DNOC WHEN APPLYING A POTENTIAL ANTIDOTE MIGU-2

Summary. The article presents the results of experimental study of the effectiveness of MIGU-2 antidote application in poisoning with dinitroorthocresol (DNOC), which is used in industry and agriculture. Based on comparative parameters of toxicokinetics and toxicodynamics of DNOC in experimental animals under conditions of antidote use and without it, we made a conclusion about the efficiency and detoxification properties of MIGU-2.

Key words: toxicokinetics, germanium coordination compound, MIGU-2, dinitroorthocresol.