

**Анализ методических подходов к построению моделей, описывающих
метаболические и токсикодинамические процессы биообъектов
различных фенотипических групп**

Антонова О.М., Вашурин Е.А.

*Федеральное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский
испытательный институт Министерства обороны Российской Федерации». 412918,*

Саратовская область, г. Вольск-18, ул. Краснознаменная д.1

тел. (812)449-61-77, e-mail: niigpech@rihophe.ru

Резюме. В экспериментах на лабораторных животных было показано, что параметры токсичности связаны с параметрами, отражающими полиморфизм в содержании и активности ферментов, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков в организме различных биообъектов. Предлагается учитывать гетерогенность популяции в распределении фармакокинетических параметров в целях оценки чувствительности организма к ксенобиотикам. Обсуждается изменение фармакокинетических параметров карбамазепина, с точки зрения нарушения проницаемости гистогематических барьеров и функционирования монооксигеназной системы печени при воздействии на организм вредных веществ в дозах низкой интенсивности.

Ключевые слова: полиморфизм, индивидуальные различия, гетерогенность популяции, фенотип, фармакокинетика карбамазепина, люизит.

**Analysis of methodological approaches for making models description
metabolic and toxikodinamic processes of biological objects of different
phenotypical classes**

Antonova OM, Vashurin EA.

33 Central Research and Test Institute of the Ministry of Defense of Russian

Abstract. In the experiments with laboratory animals it was shown that parameters of xenobiotic toxic effect are associated with features of individual differences in its biotransformation and polymorphism of metabolizing ferments. It is offer to take into account population heterogeneity in distribution of pharmacokinetic parameters with the purpose of estimation of

organism sensitivity to xenobiotics. Change of carbamazepine pharmacokinetic parameters is discussed from the point of view of histohematic barriers permeability breach and functioning of monooxygenic system of liver when effecting of harmful substances on the organism in doses of low efficiency.

Key words: polymorphism, individual differences, population heterogeneity, phenotype, carbamazepine pharmacokinetics, lewisite

ВВЕДЕНИЕ

Наибольшую сложность в биомедицинских исследованиях представляет проведение объективного анализа полученных экспериментальных данных. Это связано, во-первых, с широким диапазоном колебания исследуемых признаков в норме (например, клинко-биохимические показатели плазмы периферической крови, данные электрофизиологических методов исследования) и, во-вторых, со значительной долей субъективности, а так же недостаточной изученности того или иного функционального (патологического) состояния организма [1, 2, 3, 4]. Реакция биообъекта на лекарственное вещество (ЛВ) в значительной степени определяется индивидуальными особенностями его фармакокинетики и фармакодинамики. Известно, что у разных людей, несмотря на одинаковую концентрацию лекарственного вещества в крови, эффект может отличаться, и наоборот – для достижения одинакового эффекта у ряда пациентов требуется поддержание различных концентрационных уровней ЛВ в крови [5].

Поэтому изучение влияния генетически детерминированных биохимических систем биообъектов на формирование биологического ответа организма при воздействии ксенобиотиков различной природы является сложной и далеко не решенной задачей современной токсикологии. Тем не менее, индивидуальные особенности токсикологического ответа можно оценить при детальном изучении функционального состояния биохимических систем организма. Действительно, генетически полиморфные транспортные белки могут по-разному проявлять свои физико-химические свойства при взаимодействии с ксенобиотиками, что приводит к различиям в изменении функции клетки, например, проницаемости плазматических мембран. В свою очередь, изменение проницаемости мембран ведет к различиям в распределении вещества. Полиморфизм изоферментов, участвующих в биотрансформации также отразится на параметрах, характеризующих распределение вещества, интенсивность его элиминации и экскрецию. Генетически

детерминированное изменение рецепторов в совокупности с вышеперечисленными факторами в конечном итоге отразится в биологическом ответе на воздействие ксенобиотика, что неминуемо скажется на клинической картине поражения в целом. Таким образом, разработка методических подходов, связанных с построением моделей, описывающих метаболические и токсикодинамические процессы биообъектов различных фенотипических групп, является актуальной задачей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на клинически здоровых животных. Эксперименты по оценке внутривидовых различий в токсическом действии карбамазепина проводили на крысах линий August, Fisher, Wistar, Wag. Наблюдение за животными осуществляли в течение 45 суток с ежедневным клиническим обследованием. Карбамазепин растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и вводили внутривентрально в объёме 2 мл/кг массы животного в диапазоне доз от 20 до 400 мг/кг массы тела. Расчёт среднесмертельных доз проводился по методу Finney. В исследованиях по фармакокинетике карбамазепина использовали дозу 20 мг/кг массы тела при внутривентральном способе введения в растворе ДМСО. Выделение микросомальных фракций печени осуществляли по S.A. Kamath. Содержание цитохромов p-450 и b-5 осуществляли по методу Omura и Sato на двухлучевом спектрофотометре Hitachi-557.

Исследования с применением метода фармакологического зондирования по оценке функционального состояния печени после воздействия люизита на организм животных проводили в дозах на уровне PD_{50} . В качестве фармзонда использовали карбамазепин. У животных определяли фармакокинетические параметры карбамазепина при его внутривентральном введении в дозе 20 мг/кг. По истечении двух недель этой же группе животных вводили люизит при кожно-резорбтивном воздействии в дозе 0,1 LD_{50} (1,6 мг/кг) и ингаляционным в дозе 0,1 LCt_{50} (0,032 мг·мин/л). Последующее определение фармакокинетических параметров фармзонда (карбамазепина) в разные сроки интоксикации проводили в течение двух месяцев. Кроме того, на отдельной группе животных в «норме» были определены фармакокинетические параметры фармзонда в те же сроки взятия проб, что и при обследовании животных, находившихся в опыте.

Концентрацию карбамазепина определяли в плазме крови белых нелинейных крыс. Кровь у крыс отбирали из подъязычной вены через 1, 2, 4, 7 часов после введения препарата.

Для количественного определения карбамазепина использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию. Пробоподготовку осуществляли путем отбора в чистые пробирки по 1 мл плазмы крови. Пробу подкисляли добавлением 50 мкл 6М HCl. Затем, небольшими порциями в течение 30 секунд приливали 8 мл хлороформа. После чего добавляли 60 мг аммония сернокислого. Каждое добавление реактивов сопровождалось интенсивным перемешиванием проб. Полученные таким образом пробы центрифугировали 10 минут при 3000 об./мин. Затем 6 мл супернатанта отбирали в чистые пробирки и выпаривали потоком воздуха до сухого остатка при 42 °С. После чего в пробирки добавляли по 100 мкл метилового спирта, встряхивали в течение 30 с и проводили хроматографический анализ полученного раствора.

Оптимизацию параметров хроматографического разделения карбамазепина проводили в условиях жидкостной обращенно-фазовой хроматографии с использованием колонок Zorbax SB-C18 (4,6 × 250 mm, 5µm) на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent HP 1100 фирмы Hewlett Packard (США). Идентификацию карбамазепина осуществляли при $\lambda = 290$ нм и подвижной фазе метанол – вода в соотношении 70 : 30 объемных единиц. Скорость потока подвижной фазы составила 1 мл/мин.

Математическую обработку результатов по расчету интегральных модельно-независимых фармакокинетических параметров производили с использованием метода статистических моментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее часто встречающимся в литературе подходом к интерпретации полученных результатов в оценке чувствительности организма к ксенобиотикам является описание полученных значений путем построения различных графиков, диаграмм и рисунков. Пример графического определения неоднородности популяции по чувствительности к лекарственному веществу представлен на рисунке 1 [6]. На графике по оси абсцисс откладывается логарифм дозы ЛВ, а по оси ординат – доля людей, для которых эта доза является пороговой. В результате получается кривая нормального распределения. Сложив доли, расположенные на данной кривой слева от каждой дозы, можно получить суммарную долю людей, для которых эта доза превышает пороговую, в результате чего развивается побочная реакция. Такая зависимость определяется характеристической кривой (рисунок 1,

А). Если кривая «доза-эффект» показывает, как растет величина реакции с ростом дозы ЛВ, то характеристическая кривая показывает, что с ростом дозы ЛВ растет доля людей, у которых возникает ответная реакция на ЛВ. Наклон характеристической кривой отражает разброс чувствительности к ЛВ: чем круче кривая, тем меньше разброс полученных данных. Действительно, в медицинской практике у пациентов наблюдается широкий диапазон различий значений фармакодинамических параметров, а потому, концентрация ЛВ, вызывающая лечебный эффект у большинства больных, может у одной части пациентов превышать концентрацию, вызывая побочный эффект, а у другой части может быть значительно ниже концентрации, необходимой для достижения искомого эффекта (рисунок 1, Б).

В экспериментальной токсикологии для оценки чувствительности организма к ксенобиотику используют токсикометрические показатели различных категорий доз. Например, среднеэффективная доза (ED_{50}) – доза вещества, при воздействии которой на организм, определяется некий эффект у 50 % биообъектов (рисунок 1,Б). В доклинических исследованиях на животных определяют так же среднесмертельную дозу (LD_{50}) и терапевтический индекс, то есть отношение LD_{50} к ED_{50} , который отражает избирательность

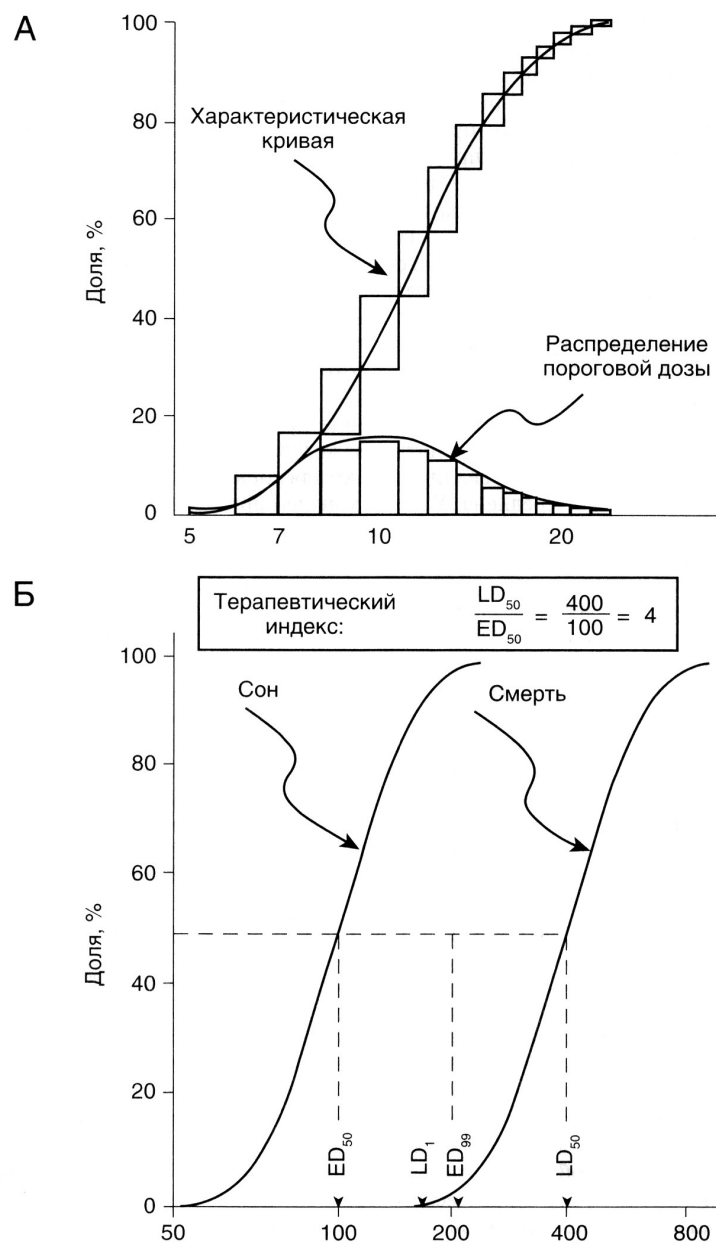


Рисунок 1 – Распределение пороговой дозы препарата (А) и характеристические кривые (Б), описывающие неоднородность популяции по чувствительности к лекарственному препарату [6]

действия вещества.

Примером практического использования данного подхода в экспериментальной токсикологии могут служить наши исследования по оценке индивидуальной чувствительности животных к карбамазепину.

В качестве анализируемых пар использовали значения среднесмертельных доз ксенобиотика (карбамазепина) разных линий крыс в зависимости от фенотипа и величины фармакокинетических и биохимических показателей, ответственных за биотрансформацию ЛВ. Результаты токсикологических исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1.
Токсичность карбамазепина в зависимости от фенотипа крыс линий Wistar, Wag, August, Fisher

Тип метаболизма	Линия крыс	n	LD ₅₀ , мг/кг	S
Быстрый	Wistar	72	200 (141...246)	1,38
	Wag	42	209 (171...248)	1,35
	August	42	215 (175...256)	1,27
	Fisher	36	231 (197...270)	1,29
Медленный	Wistar	30	256 (208...305)	1,56
	Wag	42	261 (224...300)	1,27
	August	30	250 (208...287)	1,32
	Fisher	36	266 (216...302)	1,28
Примечание – n – количество животных; S – функция наклона пробит-логарифмической прямой.				

Сопоставление величин среднесмертельных доз карбамазепина различных линий крыс с учетом индивидуальных различий в метаболизме ксенобиотика показало, что значения токсодоз незначительно отличаются друг от друга. Тем не менее, если описать каждую кривую доза – эффект уравнением, то получим зависимости, которые достоверно отличаются друг от друга у особей с разным типом метаболизма для крыс линий Wistar и August (таблица 2).

Представленные в таблице 2 уравнения регрессии вида $y = a + bx$ выводятся из анализа зависимости относительного эффекта E (%) от дозы D (мг/кг) и имеют следующий характер:

$$1 \ E \rightarrow 0 \text{ при } D \rightarrow 0;$$

$$2 \ E \rightarrow 100 \% \text{ при } D \rightarrow \infty;$$

Такое поведение производной можно аппроксимировать, например, кривой Лоренца:

$$dE/dD = A / [1 + (a + bD)^2], \quad (1)$$

где A, a, b – некоторые постоянные.

Интегрируя по D с учетом условий 1 – 2 получим:

$$E = 100 [1/2 + 1/\pi \arctg(a + bD)]. \quad (2)$$

После элементарных преобразований получим:

$$a + bD = -\operatorname{tg} [\pi (E / 100 - 1 / 2)] . \quad (3)$$

Обозначая правую часть уравнения через y , а D через x , приходим к одномерному регрессионному уравнению.

Таблица 2.

Уравнения, описывающие зависимость «доза – эффект» для линейных крыс Wistar, August, Wag и Fisher с разным типом метаболизма

Линия крыс	Тип метаболизма									
	быстрый					медленный				
	вид уравнения	параметры регрессии				вид уравнения	параметры регрессии			
		r	F	EV	n		r	F	EV	n
Wistar	y = -4,49+0,02x a (-6,44...2,54) b (0,012...0,024)	0,86***	8,3	52	5	y = -9,55+0,04x a (-11,62...-7,49) b (0,029...0,045)	0,92*	22,8	78	6
August	y = -7,95+0,04x a (-9,69...-6,21) b (0,029...0,046)	0,93**	20,1	80	5	y = -6,09+0,03x a (-6,99...-5,18) b (0,021...0,028)	0,95*	50,3	88	7
Wag	y = -9,55+0,04x a (-11,57...7,52) b (0,032...0,048)	0,92*	22,5	77	6	y = -11,54+0,04x a (-13,96...-9,12) b (0,032...0,048)	0,92*	22,5	78	6
Fisher	y = -12,67+0,05x a (-16,73...-8,62) b (0,033...0,064)	0,87**	9,6	58	5	y = -8,80+0,03x a (-11,04...6,56) b (0,024...0,038)	0,91*	18,9	74	6
Примечание – a, b – коэффициенты регрессии; n - число коррелирующих пар; r≠0 при *p<0,02; **p<0,05; ***p<0,1.										

Необходимо отметить, что для крыс линий Wistar и August наблюдаются отклонения фармакокинетических и биохимических параметров с большей степенью достоверности (таблица 3, 4). Ведущую роль в комплексе всех метаболических процессов, очевидно, играет функциональное состояние системы цитохромов печени, которое значимо отражает связь внешней среды с внутренней средой организма.

В последнее время становится актуальной проблема оценки состояния организма при его поражении следовыми количествами высокотоксичных соединений, не вызывающими видимых признаков интоксикации. Особое значение такие исследования приобретают при оценке возможного вредного действия токсичных химикатов (ТХ) на организм персонала, работающего на объектах по хранению и уничтожению химического оружия. Общетоксическое действие кожно-нарывных отравляющих веществ связано с нарушением метаболических процессов, которое приводит к поражению практически всех органов и систем организма. Эффективность донозологической диагностики пациента при возможном поражении следовыми количествами ТХ зависит от использования методов, позволяющих оценить состояние организма, в том числе, фенотип интенсивности процессов метаболизма. Одним из способов, позволяющих эффективно оценить интенсивность процессов метаболизирующей системы организма, является – фармзондирование.

Нами проведены исследования с применением метода фармакологического зондирования по оценке функционального состояния печени после воздействия люизита на организм животных в дозах на уровне PD_{50} . В качестве фармзонда использовали карбамазепин. Результаты исследований вариабельности фармакокинетических параметров карбамазепина контрольной группы животных на различные сроки наблюдения представлены в таблице 5.

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 ингаляционного воздействия люизита представлены в таблице 6. Данные таблицы иллюстрируют повышение содержания карбамазепина в сыворотке крови по сравнению с контролем, начиная со 2 и 7 суток люизитной интоксикации. Характер приведенных изменений косвенно свидетельствует о снижении уровня функционирования монооксигеназной системы печени и повышении проницаемости гистогематических барьеров (увеличение значений V_z , MRT_{po}).

Таблица 3.

Фармакокинетические показатели карбамазепина, внутривенно введенного в дозе 20 мг/кг крысам различных линий с быстрым и медленным типом метаболизма

Тип метаболизма	Линии крыс	n	Фармакокинетические параметры, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$						
			AUC, мкг·ч/мл	C _{max} , мкг/мл	Cl _{po} , ·10 ⁻³ л/ч	k _{el} , ·10 ⁻² 1/ч	t _{1/2} , ч	MRT _{po} , ч	V _z , ·10 ⁻² л
Быстрый	Wistar	7	137,7±18,1	35,6±4,2	31,5±3,4	25,2±4,4	3,6±0,8	4,82±0,79	15,0±2,9
	Wag	6	251,0±27,2	38,5±5,7	17,0±2,0	13,9±1,1	5,1±0,5	7,67±0,50	13,1±2,8
	August	5	79,7±20,0	20,1±7,1	53,3±21,0	15,5±2,7	5,1±0,9	7,03±1,27	36,2±15,2
	Fisher	7	32,3±9,7	5,6±0,5	182,0±34,0	26,1±7,1	4,1±1,1	5,76±1,19	86,8±19,0
Медленный	Wistar	7	767,1±87,3*	119,9±12,6*	5,9±1,0*	24,9±5,1	3,3±0,5	5,25±0,34	2,7±0,5*
	Wag	6	628,3±51,4*	108,0±11,3*	6,6±0,6*	29,1±2,2*	2,5±0,2*	5,05±0,19*	2,3±0,2**
	August	6	269,5±20,9*	44,7±4,3**	12,5±3,0	23,3±4,8	3,6±0,6	7,34±0,58	6,0±1,6
	Fisher	6	105,9±28,4***	30,7±13,3	51,0±9,0**	25,7±1,9	2,8±0,2	4,79±0,50	21,0±4,2**
Примечание – n – количество животных; значения достоверно различаются внутри каждой линии при *p<0,001; **p<0,01; ***p<0,05; данные представлены как среднее ± ошибка среднего.									

Таблица 4.

Каталитическая активность и содержание микросомальных ферментов в гомогенатах печени линейных крыс в зависимости от типа метаболизма

Тип метаболизма	Линии крыс	Микросомальные ферменты печени, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$, n = 6			
		содержание цитохрома P-450, нмоль/мг белка	содержание цитохрома b ₅ , нмоль/мг белка	активность НАДФН цитохром-С-редуктазы, нмоль/мин·мг белка	активность глутатион-S-трансферазы, ммоль/мин·мг белка
Быстрый	Wistar	0,76±0,03	0,56±0,03	44,26±4,27	9,37±1,09
	Wag	0,80±0,06	0,64±0,05	22,80±2,93	17,19±1,46
	August	0,95±0,03	0,70±0,09	60,00±5,23	26,42±2,33
	Fisher	1,26±0,19	0,94±0,15	104,08±14,12	23,61±4,12
Медленный	Wistar	0,16±0,02*	0,100±0,004*	44,84±3,81	15,94±1,38*
	Wag	0,60±0,04***	0,58±0,06	42,19±3,81*	3,82±0,42*
	August	0,13±0,02*	0,08±0,01*	50,00±4,60	19,78±1,12**
	Fisher	1,12±0,18	0,96±0,17	87,83±11,90*	22,14±2,34

Примечание – Значения достоверно различаются внутри каждой линии при * $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,05$; данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Таблица 5.

Двухмесячная динамика фармакокинетических параметров карбамазепина в контрольной группе белых нелинейных крыс

Время забора крови, сутки	Фармакокинетические параметры, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$, n=6					
	AUC, мкг·ч/мл	Cl _{po} , ·10 ⁻³ л/ч	k _{el} , · 10 ⁻² 1/ч	t _{1/2} , ч	MRT _{po} , ч	V _z , · 10 ⁻³ л
1	714,4±69,0	5,9±0,5	18,4±2,9	4,21±0,62	6,33±0,91	34,4±5,0
2	749,4±72,1	5,5±0,4	15,0±1,4	4,82±0,46	6,87±0,62	37,8±4,4
7	732,9±60,2	5,6±0,4	19,1±2,5	4,05±0,68	6,21±0,97	31,1±2,6
30	707,2±48,2	5,8±0,4	16,4±1,9	4,62±0,65	6,79±0,96	37,5±4,5
60	708,7±47,4	5,7±0,4	18,4±1,8	3,99±0,43	6,08±0,61	32,3±2,1

Примечание – Фармакокинетические исследования проводили на 1, 2, 7, 30 и 60 сутки после очередного внутрибрюшинного введения карбамазепина; данные представлены как среднее ± ошибка среднего.

При накожной аппликации люизита (таблица 7) наблюдается несколько иная динамика фармакокинетических показателей. Показатели AUC снижаются по сравнению с контролем и восстанавливаются лишь к 60 суткам. Примерно таким же образом изменяются значения максимальной концентрации карбамазепина, содержащегося в крови подопытных животных. Следует отметить, что показатели k_{el} практически не меняют своих значений на протяжении всего периода наблюдения, тогда как динамика кинетического объема распределения совпадает с таковой при ингаляционном воздействии люизита. О результатах проведенных исследований можно судить по показателю клиренса, который отражает интенсивность процессов элиминации в организме (рисунок 2).

При ингаляционном воздействии малых доз люизита на организм животных наблюдается снижение процессов детоксикации фармакологического зонда, что косвенно указывает на ингибирование активности микросомальных ферментов печени, тогда как при накожной аппликации люизита происходит увеличение интенсивности биотрансформации карбамазепина. Полученные данные свидетельствуют о том, что реакция организма на воздействие люизита в значительной степени зависит от путей поступления этого токсического химиката. Так, при ингаляционном воздействии люизит очень быстро попадает в кровь и за короткий период распределяется по органам и тканям. Воздействие этого яда при накожной аппликации, очевидно, приводит к связыванию его со структурными белками клеточных мембран, что вызывает нарушение клеточной проницаемости, вследствие чего происходит более медленное проникновение вещества в организм, и создается меньшая концентрация в кровотоке по сравнению с ингаляционным путем. По-видимому, этим и объясняется разная направленность фармакокинетических параметров при различных путях поступления люизита в организм. Неодинаковая направленность ответа организма на разное воздействие химического фактора также подтверждает тезис о качественном различии

Таблица 6.

Динамика фармакокинетических параметров карбамазепина у белых крыс после ингаляционного воздействия люизита в дозе 0,1 LC₅₀

Сроки, наблюдения, сутки	Фармакокинетические параметры, $\bar{d} \pm S_{\bar{d}}$, n = 6						
	$V_z, \cdot 10^{-3}$ л	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
контроль	$29,0 \pm 2,0$	$803,0 \pm 153,0$	$120,0 \pm 7,2$	$5,9 \pm 1,0$	$20,3 \pm 3,0$	$4,0 \pm 0,9$	$6,3 \pm 1,3$
2	$29,5 \pm 2,7$	$1269,3 \pm 273,3$	$131,8 \pm 6,8$	$4,1 \pm 0,9$	$14,7 \pm 3,3$	$6,7 \pm 1,9$	$10,2 \pm 2,8$
7	$37,3 \pm 2,5 *$	$1191,2 \pm 160,7$	$112,3 \pm 9,2$	$3,6 \pm 0,5 *$	$9,7 \pm 1,2 *$	$7,5 \pm 0,9 *$	$11,4 \pm 1,2 *$
30	$35,4 \pm 3,7$	$740,1 \pm 158,4$	$97,3 \pm 11,5$	$6,5 \pm 1,3$	$19,4 \pm 4,3$	$4,6 \pm 1,2$	$7,2 \pm 1,8$
60	$37,3 \pm 2,2 *$	$495,0 \pm 49,6$	$94,0 \pm 5,2 *$	$8,4 \pm 0,9$	$23,3 \pm 3,5$	$3,3 \pm 0,5$	$5,2 \pm 0,8$

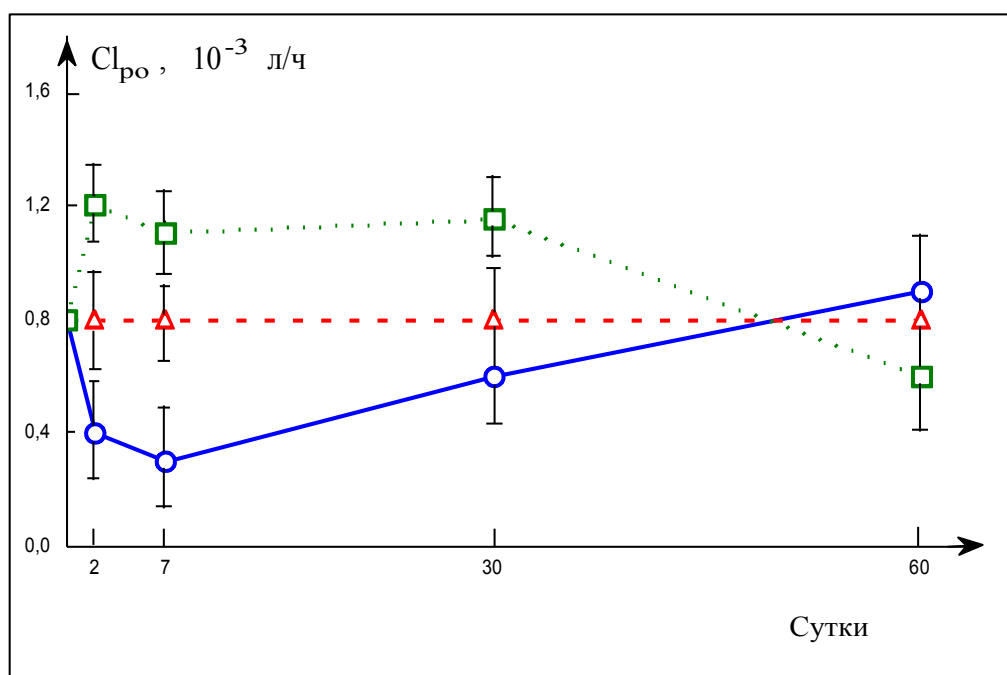
Примечание * - статистически достоверные различия с контролем, $p < 0,05$; данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Таблица 7.

Динамика фармакокинетических параметров карбамазепина у белых крыс после накожной аппликации люизита в дозе 0,1 LD₅₀

Сроки, наблюдения, сутки	Фармакокинетические параметры, $\bar{d} \pm S_{\bar{d}}$, n = 6						
	$V_z, \cdot 10^{-3}$ л	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
контроль	$31,2 \pm 5,7$	$750,1 \pm 135,1$	$135,5 \pm 14,2$	$12,9 \pm 6,0$	$24,8 \pm 5,2$	$4,5 \pm 1,8$	$6,8 \pm 2,5$
2	$47,9 \pm 6,4$	$470,1 \pm 115,8$	$75,7 \pm 8,6 *$	$12,2 \pm 3,0$	$27,2 \pm 6,2$	$3,8 \pm 1,2$	$6,1 \pm 1,6$
7	$39,5 \pm 6,6$	$424,1 \pm 60,8 *$	$114,0 \pm 18,0$	$10,9 \pm 2,2$	$28,3 \pm 3,5$	$4,2 \pm 0,6$	$4,2 \pm 0,6$
30	$46,2 \pm 4,8 *$	$387,4 \pm 83,7 *$	$96,6 \pm 12,8 *$	$12,3 \pm 2,0$	$26,3 \pm 3,2$	$2,9 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,8$
60	$35,7 \pm 1,9$	$742,7 \pm 103,6$	$130,7 \pm 9,5$	$6,0 \pm 0,8$	$17,0 \pm 2,6$	$4,6 \pm 0,7$	$6,9 \pm 1,0$

Примечание – * - статистически достоверные различия с контролем, $p < 0,05$; данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего.



Примечания

- 1 - контроль, n = 22
- 2 - ингаляция, n = 6
- 3 - накожно, n = 6

Рисунок 2 – Динамика клиренса карбамазепина при внутрибрюшинном введении белым нелинейным крысам в дозе 20 мг/кг на фоне ингаляционного и кожно-резорбтивного воздействия люизита в дозе 0,1 LC_{50} (LD_{50})

адаптации и компенсации нарушенных функций, являющихся основополагающими в теории и практике профилактической медицины [6].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Необходимо особо отметить, что обоснование признаков при изучении связи чувствительности организма к действующему химическому агенту проводится с учетом жизненно важных функций, вовлекаемых в механизм действия химического соединения и его физико-химических свойств. Причем, чем шире перечень охватываемых признаков, по которым производится разделение популяции, тем выше точность формирования опытных групп, и тем уже является разброс физиологической реакции организма на воздействие ксенобиотика. Подтверждением сказанному являются проведенные нами исследования по изучению взаимосвязи токсичности ЛВ с параметрами, оценивающими его элиминацию и особенности метаболизирующей системы оксидаз со смешанной функцией.

При оценке тесноты связи токсичности карбамазепина с фармакокинетическими и биохимическими параметрами для всей популяции без учета фенотипа крыс различных линий выявлены достаточно низкие характеристики параметров регрессии:

$$1/y = 0,003 - 0,000056/x_1 - 0,000949 \ln x_2, \quad (4)$$

где x_1 – содержание цитохрома P-450 в гомогенате ткани печени;

x_2 – значение константы скорости элиминации (k_{el});

y – среднесмертельная доза.

Параметры регрессии: $r=0,66$, $r \neq 0$ при $p < 0,234$, количество пар значений – 8, $F = 1,969$.

Тогда как при анализе зависимости между показателями токсичности (LD_{50}), фармакокинетическими и биохимическими параметрами для той же популяции крыс (линий Wistar, Wag, Fisher и August), но с учетом типа метаболизма, параметры регрессии существенно улучшились (таблица 8).

Таблица 8.

Уравнения регрессии, описывающие зависимость между показателями токсичности (LD_{50}), фармакокинетическими и биохимическими параметрами для крыс линий Wistar, Wag, August, Fisher с разным типом метаболизма

Тип метаболизма	Фармакокинетические, биохимические параметры, x	Вид уравнения	r	F
Быстрый	C_{max}	$\lg y = 2,43 - 0,064 \lg x$	0,94***	15,6
	Cl_{po}	$y = -1,056 + 0,005 x$	0,91***	9,7
	V_z	$y = -4,95 + 0,025 x$	0,95***	17,9
	цитохром P-450	$\lg y = 2,338 + 0,261 x$	0,98**	44,2
	цитохром b_5	$\lg y = 2,372 + 0,275 \lg x$	0,99*	283,7
Медленный	MRT_{po}	$\lg y = -15,17 + 38,37 / \lg x$	0,91***	9,4
	цитохром P-450	$\lg y = 2,42 + 0,024 \lg x$	0,96**	21,0
	цитохром b_5	$\lg y = 265,33 - 1,12 / x$	0,95***	17,6
Примечание – y – показатель токсичности, LD_{50} , мг/кг; количество пар значений – 4; $r \neq 0$ при * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,1$.				

Анализ представленных в таблице 8 моделей и их коэффициентов регрессии подтверждает предположение о том, что построение адекватных математических зависимостей, описывающих метаболические, токсикокинетические и токсикодинамические процессы в организме биообъектов не только возможны, но и существенно повышают адекватность модели, учитывающей фенотипы биообъектов.

Из анализа результатов полученных исследований следует, что существует удовлетворительная связь между величиной токсичности ксенобиотика и параметрами, обуславливающими его метаболизм в организме, скорость, направленность и характер элиминации. Различия в типах метаболизма существенно влияют на характер и тесноту исследуемой связи. Проведенные исследования, а также данные литературы позволили в обобщенном виде представить типы изменений фармакокинетических параметров в

зависимости от типа окислительного метаболизма (рисунок 3).

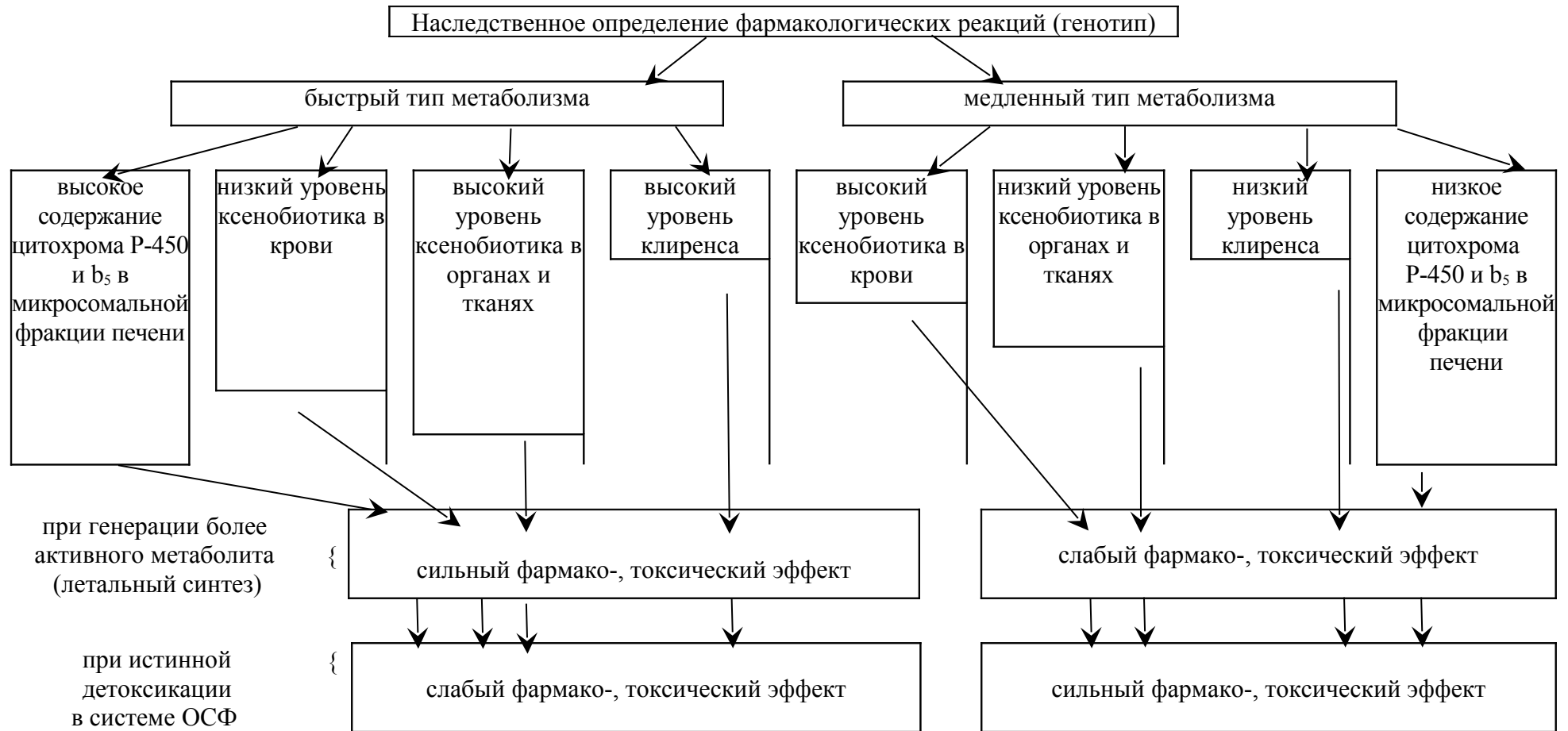


Рисунок 3 – Генетические детерминированные различия в реакциях организма при воздействии физиологически активных веществ

Таким образом, генотип индивида вносит весомый вклад в результат взаимодействия организм-ксенобиотик на всех этапах и уровнях этого взаимодействия. Однако вариабельность его отдельных проявлений может быть детерминирована генами в разной степени. В связи с этим фармакокинетический анализ направлен на установление характера наследования или соотносительной роли генетических и средовых факторов, описывающих процесс взаимодействия организм-ксенобиотик.

Можно утверждать, что данные фармакокинетики и энзимометрии наряду с данными по токсикодинамике ксенобиотика являются основополагающими при объяснении характера токсического действия вещества, и существенно определяют значения токсикологических параметров. Полученные результаты могут быть использованы для оценки индивидуальной чувствительности биообъектов к физиологически активным соединениям.

ВЫВОДЫ

1. Изучена токсичность, токсикокинетика и особенности метаболизма карбамазепина. Выявлена зависимость между чувствительностью к карбамазепину, его содержанием в организме, а также активностью микросомальных ферментов в печени исследованных линий крыс. Установлена взаимосвязь фармакокинетических процессов с активностью энзимов микросомальной системы. Разработана модель прогноза токсичности карбамазепина на основании выявления значимой связи значений LD_{50} , токсикокинетических и биохимических параметров с учетом типа метаболизма исследуемых крыс линий Wistar, Wag, August, Fisher.

2. Использование карбамазепина в качестве фармакологического зонда позволяет выявить нарушения процессов метаболизма в организме экспериментальных животных в условиях воздействия низких доз люизита. Направленность изменений фармакокинетических параметров карбамазепина отражает состояние процессов детоксикации и проницаемости гистогематических барьеров и зависит от пути поступления токсичного химиката в организм.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трахтенберг И.М. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель [и др.]. – М.: Медицина, 1991. – 206 с.
2. Линева А. Физиологические показатели нормы животных. Справочник / А. Линева. – М.: Акваиум-Принт, 2008. – 256 с.
3. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария [и др.]. – Киев.: Высшая школа, 1983. – 389 с.
4. Блинов В.А. Основы клинической биохимии человека и животных / В.А. Блинов, И.И. Калужный. – Саратов: Приволжское книжное издательство, 1996. – 248 с.
5. Холодов Л.Е. Клиническая фармакокинетика / Л.Е. Холодов, В.П. Яковлев. – М.: Медицина, 1985. – 464 с.
6. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману. Книга первая : [пер. с англ.] / Под общей редакцией А.Г. Гилмана; перевод с английского под ред. Ж.Ю. Алябьевой, М.А. Слинкиной, Е.Р. Тимофеевой [и др.]. – М.: Практика, 2006. – 520 с.
7. Авалиани С.Л. Использование зависимости "концентрация-статус организма" для оценки воздействия комплекса атмосферных загрязнений / С.Л. Авалиани, М.М. Андрианова, А.В. Вотяков [и др.] // Гиг. и сан. – 1992. – № 2. – С. 4 – 6.