

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК УКРАИНЫ
УКРАИНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ

На правах рукописи

ГРЫЗУНОВА Галина Константиновна

**ХЕМОБИОКИНЕТИКА ЭПИХЛОРГИДРИНА
И ЕЕ МОДИФИКАЦИЯ КВЕРЦЕТИНОМ**

14.00.20 — токсикология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Киев — 1993



AB27.887

Работа выполнена на кафедре фармакологии Луганского медицинского института.

Научный руководитель — доктор медицинских наук, профессор **В. Д. Лукьянчук**

Официальные оппоненты — доктор биологических наук **В. А. Жила**

— доктор медицинских наук, профессор **Б. С. Бравер-Чернобульская**

Ведущее учреждение — Институт биоорганической химии и нефтехимии АН Украины

Защита состоится 22 сентября 1993 г.

в 13 часов на заседании специализированного совета д 088-19.01 при Украинском научно-исследовательском институте фармакологии и токсикологии по адресу: 252057, г. Киев-57, ул. Эжена Потье, 14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Украинского НИИ фармакологии и токсикологии.

Автореферат разослан « » _____ 1993 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

В. С. ДАНИЛЕНКО.

Актуальность темы. В настоящее время в химической промышленности Украины, и особенно в промышленном регионе Донбасса, в больших объемах синтезируется и широко используется эпихлоргидрин (ЭХГ) как промежуточный продукт в производстве многих органических соединений и преимущественно эпоксидных смол и глицерина (Фомин А.П., 1971; Лазарев Н.В., 1976). Ежегодный рост объема производства ЭХГ влечет за собой контакт постоянно увеличивающегося количества лиц, работающих с этим веществом, отличающимся высокой реакционной способностью и токсичностью (Г.Н.Бахишев и соавт., 1976). Человек подвергается воздействию ЭХГ главным образом в условиях его промышленного производства при вдыхании паров или попадании яда на кожу. При использовании ЭХГ в качестве структурирующего агента в упаковочных материалах и эпоксидных смолах возможна его миграция и в пищевые продукты, а также питьевую воду. Выброс ЭХГ в окружающую среду происходит в процессе его производства, применения, а также удаления отходов (В.Я.Витрицак, 1990).

В общей системе профилактических мероприятий важное место занимают меры, направленные на снижение уровня патологий химической этиологии. Однако, как показывает практика, у лиц, контактирующих с ЭХГ в условиях промышленного синтеза, наблюдается высокий уровень общей заболеваемости, среди которой превалирует патология печени (токсические гепатопатии) (Лукьянчук В.Д., 1979; Лукьянчук В.Д., Фролов В.М., 1989).

Ранее было установлено, что высокой антидотно-лечебной активностью при острой интоксикации ЭХГ обладает ацетилцистеин в условиях внутривенного его применения (И.Г.Мизюкова, В.Д.Лукьянчук и соавт., 1979). Вместе с тем использование ацетилцистеина с лечебной, а тем более с профилактической целью при хронических отравлениях данным ядом, по известным причинам, представля-

ется нецелесообразным. Существующие же методы и средства лечения поражений организма ЭХГ являются далеко не совершенными в плане их эффективности и доступности (Дукьянчук В.Д., Козлов А.Г., 1979; Георге Могош, 1984).

Такое положение во многом обусловлено недостаточностью всестороннего изучения вопросов токсикологии ЭХГ, в частности отсутствием данных о кинетике этого токсического агента в организме. В этой связи указанные выше обстоятельства диктуют острую необходимость исследования процессов хемобиокинетики ЭХГ.

Согласно имеющимся данным литературы и результатам исследования с трудников кафедры фармакологии Луганского медицинского института известно, что препарат с Р-витаминной активностью из группы биофлавоноидов – кверцетин отличается многогранностью его фармакодинамики, обладая в том числе весьма выраженной детоксицирующей активностью, высоким антиоксидантным эффектом, свойствами индуктора микросомальных ферментов (цитохрома Г 450), а также антигипоксантным действием (Дукьянчук В.Д., 1990). Одним из существенных, на наш взгляд, достоинств этого биофлавоноида является то, что он выпускается отечественной промышленностью в виде таблеток, что позволяет его использовать в качестве средства лекарственной профилактики токсических гепатопатий, вызванных химическими соединениями в условиях их промышленного производства и применения. В связи с этим представляется целесообразным изучение лечебно-профилактического действия кверцетина при пероральном его применении для лечения гепатопатий, вызванных ЭХГ.

Цель работы. Экспериментальное изучение основных параметров хемобиокинетики ЭХГ на этапах биотранспорта, биотрансформации, распределения, элиминации и влияния на эти процессы кверцетина.

Задачи исследования.

1. Выяснить хемобиокинетические особенности распределения ЭХГ в организме животных и влияние на этот процесс кверцетина.
2. Изучить возможность и характер взаимодействия ЭХГ с белками сыворотки крови и его юдификацию кверцетином.
3. Исследовать влияние кверцетина на ферменты, катализирующие биотрансформацию ЭХГ, а также на скорость экскреции его из организма.

Научная новизна. В работе впервые изучены процессы и дана количественная характеристика хемобиокинетики ЭХГ в организме животных на этапах биотранспорта, распределения, биотрансформации и экскреции.

Экспериментально доказана целесообразность и эффективность применения кверцетина и его способность модифицировать хемобиокинетику ЭХГ в части сокращения длительности циркуляции яда в крови, уменьшения уровня накопления в органах, ускорения процессов биотрансформации и экскреции с мочой и желчью.

Установлены новые параметры хемобиокинетики ЭХГ (степень сродства ЭХГ к белкам крови, число мест связывания яда на молекуле сывороточного альбумина, объем и спектр распределения в органах и тканях организма, состояние микросомальных ферментов, константы экскреции и элиминации и др.) в условиях применения кверцетина.

Практическая значимость работы. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием для оптимизации, фармакотерапии, в т.ч. разработки дозового режима при патологических состояниях (гепатопатиях), вызванных воздействием на организм ЭХГ, а также могут быть использованы в качестве критериев эффективности проводимого лечения.

Результаты проведенных исследований положены в основу пред-

ставленных в фармакологический комитет МЗ Украины материалов по экспериментальному исследованию эффективности кверцетина с целью получения разрешения на его клиническое изучение в качестве средства терапии и профилактики гепатопатий, вызванных ЭХГ.

Совместно с Министерством здравоохранения Украины и Республиканским центром здоровья издано Информационное письмо "Способ лечения токсических гепатопатий" от 21.02.91 г. Киев.

Отдельные фрагменты работы используются в лекционном курсе и на практических занятиях кафедр фармакологии в Луганском, Харьковском, Одесском, Винницком Днепропетровском, Донецком медицинских институтах.

Основные положения работы, выносимые на защиту.

1. ЭХГ при внутрибрюшинном его введении отличается высокой степенью биодоступности и распределяется по различным органам и тканям. На этапе биотранспорти ЭХГ образует обратимые комплексы с сывороточными белками и прежде всего с альбумином, а также угнетает I и II фазы биотрансформации.

2. Биофлавоноид кверцетин, применяемый при отравлении ЭХГ, модифицирует хемобиокинетику этого соединения, что реализуется снижением уровня яда во всех исследуемых биосредах, увеличением сродства ЭХГ к сывороточным белкам, активацией процессов биотрансформации, а также усилением экскреции галогидроуглеводорода с мочой и желчью.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на заседании Луганского отделения Украинского научного товарищества фармакологов (Луганск, 1991, 1993), научно-практической конференции "Лекарственные средства Украины, синтез, научные исследования, производство, реализация" (Харьков, 1992), научно-практической конференции "Актуальные вопросы использования лабораторных животных в медико-биологических исследованиях"

(Черновцы, 1992), 3 регион. научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (Луганск, 1993).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ, по материалам экспериментальных исследований получено удостоверение на рационализаторское предложение.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах машинописи, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 4-х глав исследований, заключения, выводов и указателя литературы. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 11 рисунками. Список литературы включает 85 отечественных и 55 зарубежных источников.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования был ЭХГ (3-хлор-1, 2-эпокси-пропан, α -эпихлоргидрин), который использовали в виде 2,5% масляного раствора (подсолнечное масло). Предварительно ЭХГ подвергался химической очистке путем перегонки до постоянной температуры кипения.

Галоидуглеводород вводили животным парентерально (внутрибрюшинно) в дозах, соответствующих среднесмертельным, которые составляли 120-140 мг/кг. Среднесмертельную дозу рассчитывали с помощью экспресс-метода (Прозоровский В.Б. и соавт., 1978).

Кверцетин вводили по лечебно-профилактической схеме: за 30 минут до введения яда и через 5 минут после него, что обеспечивало оптимальный терапевтический эффект при остром отравлении ЭХГ. Доза кверцетина составляла 100 мг/кг в виде 1% крахмальной взвеси. Препарат вводили перорально.

Опыты проведены на 820 белых беспородных крысах стадного разведения, а также на крысах линии Вистар, массой 160-220 г. Все животные были половозрелые обоего пола. Крыс в опыт брали после прохождения карантина в течение трех недель. Наблюдение за состоянием животных проводили в течение 14 дней.

Изучение обратимого комплексобразования ЭХГ с белками крови проводили методом равновесного диализа который основан на диффузии свободной фракции изучаемого вещества через полупроницаемую мембрану, задерживающую молекулы белка и связанного с ним лиганда. Равновесие концентраций исследуемого соединения по обе стороны мембраны в такой системе определяется только свободной, не вовлеченной в формирование обратимых комплексов частью его молекул. Для проведения равновесного диализа использовали диализный аппарат конструкции С.Чётёра (1975) в модифицированном варианте (Дулк А.И., В.Д.Дукьянчук, 1980). Для расчета количественных параметров комплексобразования (константы ассоциации комплекса ($K_{асс}$) и числа мест связывания (N) ЭХГ на молекуле белка) использовали графический метод G.Scatchard (1949).

ЭХГ в различных средах определяли с помощью метода, основанного на его окислении перйодатом $K(KIO_4)$ при $t = 70^{\circ}C$ до формальдегида с последующей конденсацией с хромотроповой кислотой. Окрашенное соединение фотометрировали на ОМ-46 при $\lambda = 580$ нм. Из оптической плотности испытываемого раствора вычисляли оптическую плотность контрольной пробы и вычисляли содержание ЭХГ по калибровочному графику. Чувствительность метода 1 мкг в 1 мл образца (Метод. указания, 1987). Данный способ идентификации ЭХГ модифицирован нами в плане возможности его использования при работе с биосубстрагами (Грызунова Г.К. и соавт., 1991).

Оценку НАДФН-зависимой монооксигеназной гидроксиллирующей ферментативной системы печени у лабораторных животных при интоксикации ЭХГ и фармакокоррекции биофлавоноидом осуществляли с помощью определения степени деметилирования амидопирина (О.Б.Леоненко, Т.А.Попов, 1981). Принцип данного метода основан на образовании метаболитом 4-аминоантипирина с фенолом - соединения типа индофенола красного цвета в щелочной среде в присутствии

феррицианида калия. Кроме того, состояние процессов биотрансформации ЭХГ на фоне применения кверцетина оценивали по длительности сна у животных, в условиях внутрибрюшинного введения 1% раствора гексенала в дозе 70 мг/кг (Розанова В.Д., 1979).

О скорости желчеотделения у подопытных животных судили по количеству экскретируемой желчи. У наркотизированных барбитом натрия крыс вскрывали брюшную полость, катетезировали общий желчный проток (полихлорвиниловый катетер диаметром 1,5 мм). Желчь собирали в динамике в мерные пробирки с последующим измерением объема и определением в ней концентрации ЭХГ.

При определении содержания яда в моче крыс в изучаемых условиях эксперимента использовали обменные клетки общепринятого образца. При этом проводили водную нагрузку (утром и вечером) из расчета 4% воды от массы тела животного.

Все использованные при выполнении настоящей работы единицы измерений и параметры приведены в соответствии с международной системой единиц (Липперт Г., 1980). Результаты эксперимента обрабатывались методом вариационной статистики с помощью компьютера IBM PC/AT-286. Достоверность результатов оценивали по критерию t Стьюдента (Плохинский Н.А., 1979).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по определению концентрации ЭХГ в сыворотке крови крыс в динамике получены при внутрибрюшинном введении этого токсического агента в дозе, соответствующей среднесмертельной.

Установлено, что ЭХГ в крови определяется в весьма высоких концентрациях в различные сроки исследования. При этом обращает на себя внимание тот факт, что уже через 1 час от начала поступления яда в организм в анализируемой биосреде идентифицируется $159,16 \pm 6,53$ мкг/мл ЭХГ. Это указывает на достаточно высокую скорость всасывания яда в системный кровоток. Максимальное коли-

чество ЭХГ ($450,00 \pm 44,70$ мкг/мл) обнаруживается через 3 часа после введения токсического агента в организм. Необходимо подчеркнуть, что интенсивность развития клинических признаков острой интоксикации изучаемым ядом регистрируется в этот же срок - 3 часа.

Для более корректного суждения о динамике содержания ЭХГ в сыворотке крови нами построена кривая в координатах " $\ln C-t$ ". Полученные при этом данные приведены в табл. I.

По мнению Лакина К.М. и Крылова Ю.Ф. (1981) основным кинетическим параметром является скорость процесса (V_0), под которым понимают изменение количества вещества в единице объема в единицу времени, т.е. изменение концентрации в единицу времени. В нашем случае скорость также изменяется во времени и с достаточно постоянной скоростью на отрезке времени $\Delta t = t_2 - t_1$, за который концентрация ЭХГ изменяется на величину $\Delta C = C_1 - C_2$. Эмпирическая оценка скорости процесса как отношение $V_0 = \Delta C / \Delta t$ соотнесено к середине интервала между двумя последовательными измерениями $t = (t_1 + t_2) / 2$.

Показано, что величина, характеризующая скорость процесса, равна 32,6 мкг/мл/ч и является достаточно постоянной на относительно малом отрезке времени (первые шесть часов от момента поступления яда в организм). Следовательно, ЭХГ при внутрибрюшинно введении отличается весьма высокой степенью биодоступности и длительной циркуляцией в системном кровотоке в достаточно высоких концентрациях.

Следующая серия исследований была посвящена изучению влияния биофлавоноида кверцетина на содержание ЭХГ в крови с динамикой и на величины отдельных кинетических показателей, характеризующих этап циркуляции яда в системном кровотоке.

Высокая антидотно-лечебная активность кверцетина видна при

Влияние кверцетина на некоторые гемобиокинетические параметры ЭХГ, характеризующие его уровень в организме животных

Таблица I

Гемобиокинетический параметр :	Обозначение :	Размерность :	Контроль (ЭХГ - ДД ₅₀) :	Лечение (кверцетин ± ЭХГ)
Концентрация в нулевое время (по графику "lgC-t")	C ₀	мг/л	436,52	104,71
Кажущийся объем распределения	V _d	л/кг	0,31	1,31
Концентрация минимальная				
а) по формуле	C _{min}	мг/л	441,94	104,58
б) по графику			436,52	104,71
Скорость процесса на время 3 часа	V _c	мкг/мл/ч	32,60	10,00

сравнительной оценке таких хемобиокинетических параметров, как C_0 , V_d , C_{max} , C_{min} . Из приведенных в табл. I. показателей становится очевидным существенное различие в величинах начальной концентрации яда в сыворотке крови. Так, показатель C_0 в группе животных, которым вводили кверцетин в 4,17 раза ниже по сравнению с контрольной группой крыс. Примерно такая же картина наблюдается и при сравнении величин C_{max} , которые различаются в 2,15 раза. Ещё большее различие имеют место и при сравнении C_{min} . Так, если в контроле этот показатель составляет 436,52 - 441,94 мкг/мл, то в условиях применения кверцетина он равен 104,71-104,53 мкг/мл.

Величины, характеризующие объем распределения (V_d), указывают на способность ЭХГ накапливаться в различных органах и тканях организма. С целью экспериментального подтверждения этого тезиса нами в сравнительном аспекте изучались содержание ЭХГ в жизненно важных органах и способность кверцетина влиять на характер этого этапа хемобиокинетики галондуглеводорода.

Установлено, что по количеству яда на единицу массы изучаемые органы располагаются в следующей последовательности:

печень > почки > легкие > сердце > мозг.

Биофлавоноид обладает свойством уменьшать уровень ЭХГ во всех изучаемых органах, а также укорачивать длительность нахождения этого токсического агента в них при одновременном удлинении латентного периода обнаружения яда в таких органах, как почки и особенно мозг.

Одной из центральных задач нашего исследования было изучение возможности и характера взаимодействия ЭХГ с белками крови с последующим определением количественных параметров этого процесса, в том числе при применении кверцетина при данной интоксикации.

Методом равновесного диализа установлено, что ЭХГ взаимо-

действует в достаточной степени с цельной сывороткой крови, а также альбумином и γ -глобулином с образованием обратимых комплексов. Основным компонентом сыворотки, определяющим такой тип комплексообразования с ЭХГ, является альбумин.

Экспериментально доказано, что величины $K_{асс}$ комплекса изучаемого галондуглеводорода с цельной сывороткой крови и 4% сывороточным альбумином весьма близки и равны $3,76 \cdot 10^4$ мол.⁻¹ и $3,1 \cdot 10^4$ мол.⁻¹, соответственно, что следует расценивать как среднюю степень аффинитета. Эти данные являются ещё одним доказательством того, что комплексообразование ЭХГ с белками цельной сыворотки обусловлено обратимым взаимодействием яда преимущественно с сывороточным альбумином.

В пользу этого суждения свидетельствует полученная величина аффинитета комплекса ЭХГ с γ -глобулином, которая составляет лишь $1,26 \cdot 10^4$ мол.⁻¹, что примерно в 2,5 раза ниже таковой при оценке комплексообразования яда с альбумином сыворотки крови. Количество мест связывания (N) ЭХГ одной молекулой сывороточного альбумина составляет 16,8, а γ -глобулина — $6,2 \cdot 10^5$ мол.⁻¹. При этом необходимо подчеркнуть, что величинами N при образовании обратимых комплексов ЭХГ с сывороточным альбумином и белками цельной сыворотки крови практически одинаковы ($16,8 \cdot 10^5$ и $17,8 \cdot 10^5$ мол., соответственно).

Развивая это положение, можно прийти к заключению, что интенсивность токсического действия ЭХГ обратно пропорциональна степени его связывания с сывороточными белками. Это достигается с помощью антидотно-лечебного влияния кверцетина. Иными словами, усиление взаимодействия ЭХГ с сывороточными белками в условиях применения кверцетина препятствует его переходу в ткани, снижая тем самым токсический эффект галондуглеводорода.

Правильное понимание процессов изменения бистрансформации

галоидуглеводорода алифатического яда, в том числе ЭХГ, позволит, по нашему мнению, осуществлять направленную фармакологическую регуляцию его преобразования, в результате чего можно избежать проявления нежелательных эффектов и одновременно усилить терапевтическое действие антидотно-лечебного средства.

Результаты определения содержания метаболита амидопирина - 4-аминоантипирина (4-ААП) и N-ацетил-4-аминоантипирина (N-ац-4-ААП) в моче, отражающего метаболические реакции I и II фаз биотрансформации, показали, что в условиях острой интоксикации галоидуглеводородом у животных через одни сутки наблюдалась анурия. Это не позволило провести необходимые исследования. В то же время определение указанных метаболитов амидопирина в группе крыс, леченых кверцетином, показало, что препарат через одни сутки после интоксикации ЭХГ способствует сохранению способности печени к биотрансформации ксенобiotика. Безусловно, что экскреция как 4-ААП, так и N-ац-4-ААП в данный срок наблюдения не достигает уровня интактных животных.

Через трое суток выведение с мочой 4-ААП в группе леченых животных происходит почти в 2-3 раза интенсивнее, чем в это же время в группе крыс, которым вводили только яд. Положительный, защитный эффект кверцетина реализуется также и при оценке количества экскретируемого N-ац-4-ААП за 6 и 24 часа через трое суток после начала интоксикации галоидуглеводородом.

Применение кверцетина на пятые сутки интоксикации ЭХГ корригирует процессы биотрансформации практически до уровня регистрируемого у интактных животных. Эти данные могут служить экспериментальным обоснованием длительности применения биофлавоноида при острой интоксикации ЭХГ.

Таким образом, проведенная серия исследований по оценке состояния процессов биотрансформации при остром отравлении ЭХГ

и применении кверцетина позволила выявить значительное снижение эффективности функционирования системы обезвреживания организма на уровнях I и II фаз метаболизма ксенобиотика под воздействием галоидуглеводорода. В то же время экспериментально доказана способность изучаемого биофлавоноида модифицировать метаболические реакции при данной интоксикации.

Представляло также интерес исследовать состояние процессов детоксикации в организме крыс, подвергнутых острому токсическому воздействию ЭХГ, путем определения длительности гексеналового сна и влияния на это биофлавоноида кверцетина.

Установлено, что в группе крыс, которым вводили только ЭХГ (контроль) длительность гексеналового сна увеличивается на 36% через 24 часа по сравнению с интактными животными. В более поздние сроки наблюдения (через три суток) от начала введения токсического агента животным происходит почти четырехкратное удлинение гексеналового сна. Эти данные достаточно хорошо согласуются, с одной стороны, с максимальным нарастанием симптомов интоксикации, а с другой — с максимальными изменениями ранее упомянутых хемобиокинетических параметров ЭХГ в данный срок исследования. Анализ данных, полученных на пятые сутки от начала интоксикации ЭХГ, также указывает на существенное и достоверное ($P < 0,05$) удлинение депримирующего эффекта гексенала.

Под воздействием биофлавоноида длительность гексеналового сна у отравленных животных на первые сутки эксперимента на 9% меньше, чем в контроле (без лечения). Значительно более выраженное и достоверное ($P < 0,05$) влияние кверцетина установлено на третьи сутки после интоксикации ЭХГ. Не менее эффективным оказалось применение кверцетина в плане его влияния на длительность гексеналового сна у отравленных животных и на пятые сутки эксперимента. Биофлавоноид в этот срок изучения сокращает длительность

ность сна на 12% по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, проведенная серия исследований по оценке влияния кверцетина на ферменты, катализирующие биотрансформацию ЭХГ при острой интоксикации этим ядом, позволила выявить выраженную способность препарата модифицировать активность ферментов микросомального окисления. Данное положение нашло свое экспериментальное подтверждение как в опытах по изучению процесса N-деметилирования амидопирина с последующим определением динамики уровня экскреции метаболитов последнего с мочой, так и при определении длительности гексеналового сна у животных в изучаемых условиях эксперимента.

Следующий фрагмент работы посвящен вопросам изучения влияния антидотно-лечебного средства кверцетина на степень и характер экскреции из организма ЭХГ с мочой и желчью.

Установлено, что в группе животных, которым вводили только ЭХГ (контроль), уже через 24 часа экскретируются достаточно высокие концентрации яда с мочой ($18,73 \pm 2,84$ мкг/мл). В течение первых суток из организма выводится $112,40 \pm 7,46$ мкг/сут. Максимальное количество экскретируемого галогидроуглеводорода через почки определяется спустя 48 часов от начала интоксикации, достигая при этом $114,00 \pm 9,40$ мкг/сут.

Сравнивая полученные величины, характеризующие суммарное выделение ЭХГ с мочой крыс за первые и вторые сутки, видно, что различий практически нет. В связи с этим, по-видимому, будет более корректным говорить о максимальном выведении яда через почки при применении кверцетина в течение первых двух суток. На третьи сутки концентрация ЭХГ в моче в значительной степени снижается, достигая $12,90 \pm 2,17$ мкг/мл, т.е. почти в два раза меньше по сравнению с цифрами, регистрируемыми в предыдущий срок наблюдения. Исследования, проведенные на четвертые сутки,

свидетельствуют об отсутствии ЭХГ в анализируемой биосреде (моче).

Интересные данные получены при определении уровня ЭХГ в крови крыс, леченых кверцетином. Показано, что уже в течение первых суток под воздействием препарата экскреция яда через почки на 49% больше, чем в контроле. Оценивая влияние кверцетина на секреторную способность почек при интоксикации ЭХГ через 48 часов выявлено, что эффективность препарата ещё более возрастает. Так, в группе леченых крыс концентрация ЭХГ в моче составляет $46,46 \pm 4,02$ мкг/мл против $23,00 \pm 1,87$ мкг/мл без лечения.

Следовательно, кверцетин обладает выраженной способностью модифицировать, наряду с другими показателями хемобиокинетики, и процессы экскреции изучаемого галоидуглеводорода, что реализуется как усилением, так и ускорением выведения яда из организма животных. Это следует расценивать как одну из сторон механизма детоксицирующего действия биофлавоноида.

С целью более корректного представления о процессах исчезновения ЭХГ из организма, в том числе и в условиях применения изучаемого антидотно-лечебного средства, определен ряд хемобиохимических параметров, представленных в табл. 2.

Полученные экспериментальные данные позволяют с определенной уверенностью констатировать выраженную способность кверцетина влиять на процессы выведения ЭХГ из организма через почки, т.е. с мочой. Поскольку другим не менее важным путем экскреции яда из организма является выведение его с желчью, следующий этап работы посвящен изучению этого вопроса.

Доказано, что ЭХГ определяется в желчи на протяжении первых пяти дней от начала поступления его в организм. Максимальная концентрация яда регистрируется на третьи сутки ($3,03 \pm 0,30$ мкг/мл). На пятые сутки экскреция ксенобиотика в анализируемом

Влияние кверцетина на гемобиокинетические параметры ЭХГ,
характеризующие его элиминацию из организма

Таблица 2

Гемобиокинетический параметр :	Обозначение :	Размерность :	Контроль (ЭХГ - ДД ₅₀) :	Лечение (кверцетин ± ЭХГ)
Константа скорости элиминации	k_{el}	$ч^{-1}$	0,58	0,65
Общий клиренс	Cl_T	л/ч.кг	0,18	0,85
Период полувыведения	$t_{1/2}$	ч	1,19	1,07
Площадь под кинетической кривой "концентрация-время"	S	мг.ч/л	761,10	161,18
Концентрация на момент периода полувыведения	$Ct_{1/2}$	мг/л	519,46	112,04
Время исчезновения ЭХГ из крови (по графику)	t_T	ч	239	171

биосубстрате снижается почти в шесть раз по сравнению с третьими сутками и составляет лишь $0,55 \pm 0,05$ мкг/мл. На шестой день эксперимента ЭХГ в желчи не идентифицируется.

Следовательно, желчь можно рассматривать как один из наиболее активных экскретов в плане выведения из организма изучаемого токсического агента.

В течение первых суток после поступления яда в организм крыс и лечения их кверцетином наблюдается значительное (на 126,5%) усиление экскреции ЭХГ с желчью. Такая закономерность имеет место при расчете концентрации ЭХГ в желчи крыс как в пересчете на единицу объема (мл). Спустя двое суток от начала интоксикации и коррекции кверцетином (72 ч) также регистрируется увеличение содержания яда в желчи животных, но уже в несколько меньшем количестве по сравнению с первыми сутками. На пятые же сутки эксперимента ЭХГ в желчи крыс леченой группы не определялся.

Таким образом, результаты исследований однозначно указывают на выраженную способность кверцетина усиливать и ускорять экскрецию ЭХГ с желчью при острой интоксикации этим ядом.

Суммируя полученные данные, можно прийти к заключению о том, что одной из сторон механизма антидотно-лечебной активности биофлавоноида кверцетина при отравлении ЭХГ является способность препарата влиять на процессы экскреции яда с такими биосубстратами как с мочой, так и желчью. Из этого следует, что одним из важных направлений в проведении комплексного лечения пострадавших от воздействия ЭХГ, наряду с применением кверцетина, следует нормализовать структурно-функциональное состояние печени и почек также и с помощью средств патогенетической терапии.

ВЫВОДЫ

1. При внутривенном введении ЭХГ отличается весьма высокой степенью биодоступности и длительной (около 84 ч) циркуляцией в системном кровотоке, откуда распределяется по различным органам, которые по количеству яда на единицу массы располагаются в следующей последовательности:

печень > почки > легкие > сердце > мозг.

2. Методом равновесного диализа установлено, что ЭХГ взаимодействует с сывороточными белками с образованием обратимых комплексов. Основным компонентом сыворотки, определяющим такой тип комплексобразования с ядом, является альбумин.

Полученные количественные параметры обратимого взаимодействия яда с альбумином и γ -глобулином соответствуют средней степени аффинитета при количестве молекул ЭХГ, фиксируемых одной молекулой белка, равной величинам порядка 3 и 8 и концентрации мест связывания $15,8 \cdot 10^{-5}$ моль и $6,2 \cdot 10^{-5}$ моль, соответственно.

3. Экспериментально доказана выраженная способность биофлавоноида кверцетина, применяемого при данной интоксикации, уменьшать концентрацию яда и длительность его циркуляции в системном кровотоке. Выявлено свойство кверцетина снижать уровень ЭХГ во всех изучаемых органах, а также сокращать длительность нахождения этого токсического агента в них при одновременном удлинении латентного периода идентификации яда в почках и особенно в мозге.

4. Применение кверцетина при интоксикации ЭХГ модифицирует способность последнего взаимодействовать с сывороточными белками, что проявляется резким увеличением средства яда к белкам с одновременным повышением количества фиксируемых его молекул на одной молекуле протеина.

5. Оценка состояния процессов биотрансформации в динамике при остром отравлении ЭХГ позволила выявить значительное снижение эффективности функционирования системы обезвреживания организма на уровнях I и II фаз метаболизма ксенобиотиков (амидопиррина и гексенала) под воздействием ЭХГ. Кверцетин выражено повышает активность ферментов микросомального окисления в опытах по изучению процессов N-деметилирования амидопиррина, а также уменьшает длительность гексеналового сна у животных при интоксикации ЭХГ.

6. Антидотно-лечебное применение кверцетина в значительной степени усиливает и ускоряет экскрецию ЭХГ с мочой и желчью при острой интоксикации этим ядом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Способ лечения токсических гепатопатий: Информационное письмо М-во здравоохранения Украины, Респ. центр здоровья. - К., 1991. - 2 с. (соавт. В.Д.Лук'ячук, Луик А.И. и др.).
2. Вплив кверцетину на зв'язкучу здатність сироваткових білків відносно епіхлоргідрину //В кн.: Лікарські засоби України, синтез, наукові дослідження, виробництво, реалізація: Тез. доп. наук.-практич. конф. - Харків, 1992. - С. 208 (соавт. В.Д.Лук'ячук, Г.Д.Висоцький).
3. Кинетика экскреции эпихлоридрина с мочой //Мат. Б регион. науч. конф. иммунологов, аллергологов, генетиков. - Москва-Дуганск, - 1992. - С. 29-30.
4. Молекулярні механізми спрямованого взаємодіяння епіхлоргідрину з білками сироватки крові крис //В кн.: Актуальні питання використання лабораторних тварин і медико-біологічних дослідженнях: Мат. наук.-практич. конф. - Чернівці, - 1992. - С. 86-87 (соавт. В.Д.Лук'ячук і ін.).

5. Состояние монооксигеназной и антиоксидантной систем организма при воздействии экстремальных факторов // В кн.: Экология промышленного региона Донбасса: Сб. науч. тр. сотрудников Луганского мед. ин-та. - Луганск, 1993. - С. 98-102 (соавт. В.Д. Лукьянчук и др.).
6. Оценка скорости изменения концентрации эпихлоргидрина в сыворотке крови крыс // Мат. 3 регион. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов. - Луганск, 1993, - С. 36-37.

РАЦИОНАЛИЗАТОРСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

- I. Способ выделения эпихлоргидрина в биологических средах. - Удостоверение на рационализаторское предложение № 2607 выдано 4.02.1991 года Луганским медицинским институтом (с соавт.).

Подписано в печать 07.07.93. Формат 60x84/16. Бумага типографская.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0: Тираж 100: Заказ 4870.
Областная типография, 348040, Луганск, ул. Ватутина, 89а.

1100870

AB 27.887