

УДК 577.151.121:092.9

## КИНЕТИКА МАСОПЕРЕНОСУ МЕТАНОЛУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ЗА УМОВ ПЕРОРАЛЬНОГО ТА ВНУТРІШНЬОВЕННОГО ЙОГО ВВЕДЕННЯ

**Головенко М.Я., Ларіонов В.Б., Цапенко Ж.М.**

Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України, Одеса  
lvb\_78@mail.ru, golovenko@interchem.com.ua

*Впервые поступила в редакцию 11.09.2007 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 5 от 05.10.2007 г.).*

### Вступ

Визначення масопереносу лікарських засобів у внутрішньому середовищі експериментальних тварин відноситься до особливо важливих показників, оскільки це віддзеркалює основні моменти дифузійних процесів в клітинах і є підґрунтям для опису кінетичних характеристик. Зазначене є актуальним для рідких речовин з невеликою молекулярною масою (низькомолекулярні спирти), що відносяться до потенційно небезпечних для організму [1, 2].

Метанол є найпоширенішим технічним розчинником і його найбільша кількість використовується для видобування феноло-формальдегідних смол. Окрім того, його додають до рідкого палива для двигунів внутрішнього згорання [3]. Він є токсичним агентом, що діє на нервову та судину системи. Отже, є необхідністю запобігання тривалого контакту з цією сполукою.

Виходячи з принципу залежності токсичної дії речовини від концентрації, обов'язковим є вивчення її надходження в особливо уразливі ділянки організму залежно від часу. Існують дані літератури, в яких розглянуто деякі біохімічні аспекти токсичності метанолу [4, 5], токсичність [6] та вразливу дію за умов його інгаляції [1], та запропоновано деякі моделі щодо його розподілу у організмі [7], але є досить значний дефіцит наукових даних про розподіл

метанолу та показники фармакокінетичних моделей, якими цей розподіл описується. Приймаючи до уваги притаманні вказаним джерелам недоліки метою даної роботи було вивчення фармакокінетичних показників метанолу при різних способах його введення.

### Експериментальна частина

У дослідах були використані білі безпородні миши-самці, яким за певний проміжок часу (0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 або 6 годин) до відбору проб водили внутрішньовенно (у хвостову вену), або перорально (інтрагстрально)  $^{14}\text{C}$  метанол (4,3 Кю/моль) у вигляді розчину у 0,9 % NaCl. Для відбору проб тварин піддавали наркозу, декапітували та збирали кров у попередньо оброблені розчином гепарину центрифужні пробірки, центрифугували протягом 15 хв (5 тис. об/хв.) та аліквоту плазми крові (0,4 см<sup>3</sup>) з додаванням 0,2-0,3 см<sup>3</sup> Трітону X-100 заливали толуольно-спиртовим сцинтилятором (10 см<sup>3</sup>). Вміст радіоактивних продуктів в головному мозку та печінці визначали після їх попередньої гомогенізації (0,9 % NaCl), 1:4 маса/об'єм) у аліквоті гомогенату (0,4 см<sup>3</sup>), до якої додавали Тритон X-100 та толуольно-спиртовий сцинтилятор, на рідинному сцинтиляційному фотометрі TRI CARB Canberra PACKARD 2700.

Отримані дані оброблені за допомогою статистичного пакету програми MS Excel.

### Обговорення результатів.

Визначення вмісту радіоактивного матеріалу у головному мозку, печінці та плазмі крові при внутрішньовенному введенні (табл. 1) свідчить про досить високу швидкість розподілу метанолу після введення, а також про нерівномірність його розподілу. Так, впродовж всього часу експерименту спостерігається по-

мується при введенні великих доз етилового спирту). Помітно, що у головний мозок надходить близько 1/3 від кількості метанолу, який знаходиться у крові, тоді як у випадку печінки цей розподіл є більш рівномірним ( $0,32 \pm 0,03$  та  $1,14 \pm 0,11$  для головного мозку та печінки відповідно).

При пероральному введенні метанолу у еквімолярній дозі (20 мМоль/кг)

Таблиця 1

Вміст метанолу та його метаболітів у головному мозку, печінки (мкМоль/г) та плазмі крові (мкМоль/см<sup>3</sup>) мишей та їх співвідношення (орган/плазма крові, N) при внутрішньовенному введенні (20 мМоль/кг)

Час, год	Плазма	Мозок	N	Печінка	N
0,083	28,1 ± 1,3	8,7 ± 0,2	0,31 ± 0,02	30,8 ± 1,7	1,09 ± 0,08
0,25	28,1 ± 1,8	9,5 ± 0,3	0,34 ± 0,02	29,2 ± 2,0	1,04 ± 0,10
0,5	23,0 ± 1,1	7,7 ± 0,2	0,33 ± 0,02	23,1 ± 2,0	1,01 ± 0,10
1	17,7 ± 0,7	5,4 ± 0,2	0,31 ± 0,02	19,4 ± 0,7	1,10 ± 0,06
2	20,1 ± 1,3	6,2 ± 0,4	0,31 ± 0,03	18,4 ± 2,7	0,92 ± 0,15
4	16,1 ± 1,4	5,1 ± 0,4	0,32 ± 0,04	22,2 ± 1,8	1,38 ± 0,16
6	14,1 ± 0,7	4,7 ± 0,3	0,33 ± 0,03	20,7 ± 1,2	1,46 ± 0,11
Середнє			0,32 ± 0,03		1,14 ± 0,11

помітне його швидке надходження до внутрішнього середовища, при цьому досить високі його концентрації спостерігаються не тільки у плазмі крові та печінці, але й у головному мозку (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст метанолу та його метаболітів у головному мозку, печінки (мкМоль/г) та плазмі крові (мкМоль/см<sup>3</sup>) мишей та їх співвідношення (орган/плазма крові, N) при пероральному введенні (20 мМоль/кг).

Час, год	Плазма	Мозок	N	Печінка	N
0,083	12,3 ± 1,5	5,4 ± 0,6	0,44 ± 0,07	15,6 ± 4,1	1,28 ± 0,37
0,25	17,6 ± 0,9	6,2 ± 0,9	0,35 ± 0,05	16,9 ± 2,1	0,96 ± 0,13
0,5	13,4 ± 1,0	7,1 ± 0,5	0,53 ± 0,06	20,4 ± 3,7	1,53 ± 0,30
1	14,5 ± 2,2	7,3 ± 0,4	0,50 ± 0,08	20,4 ± 1,8	1,41 ± 0,25
2	16,1 ± 0,3	6,0 ± 0,2	0,37 ± 0,02	18,4 ± 0,8	1,15 ± 0,05
4	16,7 ± 0,6	5,5 ± 0,3	0,33 ± 0,02	19,1 ± 1,1	1,14 ± 0,08
6	12,6 ± 0,8	5,1 ± 0,3	0,41 ± 0,04	17,2 ± 2,0	1,36 ± 0,18
Середнє			0,42 ± 0,05		1,26 ± 0,22

У перші години після введення спостерігається підвищення концентрації радіоактивної речовини (у головному мозку та печінці виділяється ділянка кінетичної кривої, що підіймається, та досягає максимуму до однієї години після введення), а потім повільне зменшення

ступове зниження його концентрації у всіх органах, але у печінці воно має менш інтенсивний характер (наприкінці експерименту концентрація радіоактивного матеріалу зменшується лише у 1/3 від вихідних значень).

Співвідношення «орган/плазма крові» для головного мозку та печінки впродовж всього часу експерименту залишається на постійному рівні, відображаючи сталість процесів метаболізму метанолу та його елімінації (табл. 2). Це узгоджується з даними [8], що вказують на малу швидкість біотрансформації метанолу (метаболізм якого ще більш галь-

вмісту радіоактивних продуктів. У порівнянні з внутрішньовенним введенням (табл. 1) помітно статистично недостовірне підвищення розподілу метанолу та його метаболітів між печінкою, головним мозком та плазмою крові (табл. 2), що, ймовірно, обумовлене більш високим накопиченням метаболітів метанолу при пероральному введенні завдяки ефекту первинного проходження крізь печінку (так, для головного мозку співвідношення «орган/плазма крові» складає  $0,42 \pm 0,05$ , а для печінки  $1,26 \pm 0,22$ ).

Аналіз профілю концентрації радіоактивних сполук у плазмі крові та голов-

ному мозку після внутрішньовенного введення  $^{14}\text{C}$ -метанолу показав, що вони задовільно описуються двохчастинною фармакокінетичною моделлю, а вказані біологічні об'єкти можливо віднести до центрального відсіку кінетичної схеми:

$$Ct = A \cdot \exp(-\alpha t) + B \cdot \exp(-\beta t)$$

де  $A$ ,  $B$  – предекспоненційні множники, а  $\alpha$  та  $\beta$  – комплексні параметри, що характеризують процеси розподілу та елімінації речовини відповідно.

З наведених даних помітно (табл. 3), що процес розподілу метанолу після його введення характеризується високою швидкістю (високі значення параметру  $\alpha$  для плазми крові ( $6,5 \pm 0,1$ ) та головного мозку ( $1,724 \pm 0,127$ ) вказують на інтенсивність процесу розподілу між плазмою крові (час напіврозподілу  $t_{\alpha/2}$   $0,107 \pm 0,001$  год), головним мозком ( $0,402 \pm 0,030$  год) та периферичною кінетичною камерою.

Навпаки, поряд з досить швидким процесом розподілу метанолу в організмі після внутрішньовенного введення спостерігається декілька повільна його елімінація (параметр  $\beta$ -фази дорівнює  $0,088 \pm 0,005$  та  $0,066 \pm 0,004$  для плазми крові та головного мозку відповідно), що при-

зводить до відносно високої величини часу напівелімінації ( $7,8 \pm 0,4$  год та  $10,4 \pm 0,6$  год для плазми крові та головного мозку відповідно). Взагалі, враховуючи значення комплексних констант та предекспоненційних множників фармакокінетичних моделей метанолу та його метаболітів у плазмі крові та головному мозку слід відмітити, що у останньому розподіл та елімінація протікають повільніше, що зумовлено, можливо, інтенсивним протіканням метаболічних процесів (основним шляхом якого є оксидація за допомогою каталази і, поряд з цитохромом P450 та цитозольною алкогольдегідрогеназою) у мозковій тканині, що призводить до включення метаболітів до власних біохімічних процесів організму [9].

Слід приділити увагу також константам міжкамерного переносу, які відображають протікання процесу масопереносу з центральної камери в периферичну ( $k_{12}$ ), з периферичної у центральну ( $k_{21}$ ) та елімінації з центральної камери ( $k_{13}$ ). Як для головного мозку, так й для плазми крові  $k_{13}$  та  $k_{12}$  є подібними (недостовірно відрізняються), вказуючи на паралельність процесів розподілу (надходження у периферичну камеру) та елімінації метанолу з головного мозку та плазми крові. Навпаки,  $k_{21}$  для плазми крові знач-

Таблиця 3

Фармакокінетичні параметри метанолу при його внутрішньовенному введенні (20 мМоль/кг)

Фармакокінетичний параметр	Плазма крові	Головний мозок
Предекспоненційний коефіцієнт, $A$	$12,3 \pm 1,8$	$2,7 \pm 0,3$
Комплексний параметр $\alpha$ фази, $\alpha$	$6,5 \pm 0,1$	$1,724 \pm 0,127$
Предекспоненційний коефіцієнт, $B$	$23,6 \pm 0,5$	$6,9 \pm 0,1$
Комплексний параметр $\beta$ фази, $\beta$	$0,088 \pm 0,005$	$0,066 \pm 0,004$
Константа швидкості переносу з периферичної камери у центральну $k_{21}$ , год $^{-1}$	$4,3 \pm 0,7$	$1,3 \pm 0,2$
Константа елімінації з центральної камери, $k_{13}$ , год $^{-1}$	$0,134 \pm 0,023$	$0,091 \pm 0,016$
Константа швидкості переносу з центральної камери в периферичну, $k_{12}$ , год $^{-1}$	$1,486 \pm 0,355$	$1,327 \pm 0,337$
Кінетичний об'єм розподілу, $V_c$ , см $^3$ /кг	$556,0 \pm 85,2$	$2079 \pm 261$
Об'єм розподілу периферичної камери, $V_{\beta}$ , см $^3$ /кг	$840,3 \pm 137,6$	$2848 \pm 449$
Сталий об'єм розподілу $V_{dss}$ , см $^3$ /кг	$748,1 \pm 246,9$	$4271 \pm 1432$
Загальний кліренс $Cl_{\text{общ.}}$ , см $^3$ /год*кг	$74,3 \pm 24,9$	$189 \pm 64$
Період напіврозподілу, $t_{\alpha/2}$ , год	$0,107 \pm 0,001$	$0,402 \pm 0,030$
Період напівелімінації, $t_{\beta/2}$ , год	$7,8 \pm 0,4$	$10,4 \pm 0,6$
Площа під кривою, $AUC_{\text{заг.}}$ , мкМоль/см $^3$ *год	$268 \pm 21$	$105 \pm 10$
Площа під кривою, $AUMC_{\text{общ.}}$ , мкМоль/см $^3$ *год $^2$	$3061 \pm 236$	$1590 \pm 146$
Середній час утримання, MRT, год	$11,4 \pm 1,3$	$15,1 \pm 2,0$

но перевищує такий показник для головного мозку. Взагалі, відмічаючи високі значення констант міжкамерного обміну (перевищують 1), слід віднести їх до «фіктивних» констант, оскільки вони відображають загальний процес розподілу метанолу та його метаболітів, а не індивідуальної речовини.

Утворення формальдегіду та мурашиної кислоти при метаболізмі метанолу (що мають менше значення ліофільності, ніж вихідна речовина), обумовлює також подібність та порівняно невисоке значення величин кінетичного й сталого об'ємів розподілу, а також об'єму розподілу периферичної камери (див. табл. 3) завдяки накопиченню цих речовин насамперед у міжклітинній рідині, що обмежує їх об'єм розподілу.

Величина середнього часу утримання (MRT), обчислена немодельним методом (метод статистичних моментів), яка залишається майже незмінною у певних органах як при пероральному, так й при внутрішньовенному введеннях (так, для плазми крові  $11,4 \pm 1,7$  год при внутрішньовенному та  $11,7 \pm 1,8$  год при пероральному введеннях, а для головного мозку  $15,1 \pm 2,6$  год та  $15,35 \pm 2,2$  год відповідно), вказує на високу швидкість надходження метанолу з шлунково-кишкового тракту до внутрішнього середовища.

При співставленні площ під фармакокінетичними кривими у головному мозку та плазмі крові (при внутрішньовенному та пероральному введеннях) привертає увагу факт досить високої біодоступності метанолу ( $1,07 \pm 0,17$  у головному мозку та  $0,88 \pm 0,13$  у плазмі крові).

У порівнянні деяких фармакокінетичних характеристик метанолу з його найближчим гомологом – етанолом виявляються деякі характерні відміни [10]. Так, насамперед, розподіл етанолу між органами та плазмою крові є значно вищий (для мозку  $0,77 \pm 0,10$ , для печінки  $2,31 \pm 0,29$  у порівнянні з метанолом  $0,32 \pm 0,03$  та  $1,14 \pm 0,11$  відповідно). Значна різниця між показниками розподілу (більш ніж

у 2 рази), вірогідно, у даному випадку зумовлена не тільки зміною фізико-хімічних властивостей речовин (підвищення ліпофільності, діелектричної проникності тощо), а насамперед, їхньою взаємодією з системами організму [8]. Відомо, що на відміну від метанолу етанол є одним з фізіологічних метаболітів, які присутні в організмі, тому долання ним гемато-енцефалічного бар'єру може бути опосередковане за рахунок систем-переносників, тоді як для метанолу вірогідним є пасивна дифузія. Також наявністю специфічних ферментних систем обумовлено високу швидкість виведення етанолу у порівнянні з метанолом (загальний кліренс  $466,9 \pm 133,3$  см<sup>3</sup>/год\*кг для етанолу та  $189 \pm 64$  см<sup>3</sup>/год\*кг для метанолу, час напівелімінації  $t_{\beta 1/2}$   $3,4 \pm 0,2$  год та  $10,4 \pm 0,6$  год, за даними у головному мозку).

На підставі фармакокінетичних даних встановлено, що метанол швидко всмоктується при пероральному введенні, при цьому ступінь його надходження до головного мозку та печінки дорівнює 80-100 % від внутрішньовенного введення.

Співвідношення мозок/плазма крові як при внутрішньовенному, так й при пероральному введеннях впродовж експерименту не зазнає значних змін та залишається на рівні 0,3-0,4.

#### Література

- 1 Kavet S., Nauss K.M. The toxicity of inhaled methanol vapors. / Crit.Rev.Toxicol., 1990.-№21.-P.21-50.
- 2 Akira Tsuji Small Molecular Drug Transfer across the Blood-Brain Barrier via Carrier-Mediated Transport Systems //J. Am.Exp.Neurotheraup., 2005.-V.2.-P.54-62.
- 3 Health Effect Institute Automotive methanol Vapors and Human Health: An Evaluation of Existing Scientific Information and Issues for Future Research (a special report). Health Effect Institute. 1987.-Cambrige, MA.
- 4 Liesivuori J., Savolainen H. Methanol

- and formic acid toxicity: Biochemical mechanisms. / Pharmacol.Toxicol. 1991.-№ 69.-P.157-163.
- 5 Tephly T.R., McMartin K.E. Methanol metabolism and toxicity./in Aspartame. Physiology and Biochemistry (Stegink L.D. Filer L.J. Jr.Eds).,1984.-Marcel Dekker,New York.-P.111-140.
  - 6 Roe O. Species differences in methanol poisoning. / Crit.Rev.Toxicol., 1982.- №10.-P.275-286.
  - 7 Bouchard M., Brunet R.C., Droz P.-O., Carrier G. A biologically based dynamic model for prediction the disposition of methanol and its metabolites in animals and humans. /Tox.Sci., 2001.- №64.- P.169-184.
  - 8 McQueen E.G., Ferry D.G. The Role of Acetaldehyde in the Actions of Alcohol // Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol., 1979, №6, P. 656.
  - 9 Palese M., Tephyl T.R. Metabolism of formate in rat. /J. Toxicol. Environ. Health, 1975.- №1.-P.13-24.
  - 10 М.Я. Головенко, І.Ю. Борисюк, В.Б. Ларионов, О.Б. Ліхота Особливості фармакокінетики етанолу в організмі білих мишей./ Мед.хім., 2007.-№2.- С.60-65.

### Резюме

#### КИНЕТИКА МАССОПЕРЕНОСА МЕТАНОЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ЕГО ВНУТРИВЕННОГО И ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

*Головенко Н.Я., Ларионов В.Б.,  
Цапенко Ж.Н.*

Метанол является одним из широко используемых растворителей и реактивов в промышленности, а также аддитивов для топлива. Учитывая недостаточность данных литературы о его массопереносе в организме животных, целью данной работы было изучение фармакокинетических показателей метанола при разных способах его введения.

Метанол (меченный  $^{14}\text{C}$ , 20 мМоль/

кг) вводили группам мышей внутривенно или перорально в виде раствора в 0,9 % NaCl, через определенные промежутки времени отбирали пробы плазмы крови, головной мозг, печень, гомогенизировали и определяли радиоактивность на жидкостном сцинтилляционном фотометре.

Показано, что метанол как при внутривенном, так и при пероральном введениях быстро распределяется в организме, соотношение орган/плазма крови для мозга составляет  $0,32 \pm 0,03$ , для печени  $1,14 \pm 0,11$  при внутривенном введении. При пероральном введении эти показатели несколько выше ( $0,42 \pm 0,05$  и  $1,26 \pm 0,22$  соответственно). Внутривенное введение метанола носит биэкспоненциальный характер, константы межкамерного переноса имеют высокое значение, предполагая интенсивность его распределения между центральной и периферической камерами. Соотношение площадей под фармакокинетическими кривыми указывает на высокую ( $0,88-1,07$ ) биодоступность метанола при его пероральном введении.

Различие фармакокинетических показателей метанола и его гомолога этанола (большее время полуэлиминации, меньший клиренс и т.д.) обусловлены, вероятно, не столько физико-химическими характеристиками, сколько физиологическими процессами организма.

### Summary

#### THE MASS BALANCE KINETICS OF METHANOL AND ITS METABOLITES IN MICE AFTER INTRAVENOUS AND ORAL ADMINISTRATIONS

*Golovenko N.Ya., Larionov V.B.,  
Zapenko G.N.*

Methanol is one of widely used solvents, chemicals and fuel additives. Paying attention to lack of literature data according its masse balance, the aim of this work was the pharmacokinetic methanol data obtaining after various ways of administration.

Methanol ( $^{14}\text{C}$  labeled, 20 mMole/kg)

was administered intravenously or orally to groups of mice as solution in 0.9 % NaCl. After certain time period the samples of plasma, brain and liver are taken and the radioactivity quantity is determined with the liquid scintillation photometry.

It was shown that methanol both after intravenous and oral administrations rapidly distributes in the organism, the organ/plasma ratio is  $0,32 \pm 0,03$  for brain and  $1,14 \pm 0,11$  for liver after intravenous administration. When orally administered these parameters are little higher ( $0,42 \pm 0,05$  и  $1,26 \pm 0,22$  correspondingly).

Intravenous administration has biexponential character, constants of mass balance between chambers have high values, that supposes the intensive distribution between central and peripheral chambers. The area under the curve ratio demonstrates high (0,88-1,07) methanol bioavailability after oral administration.

Difference between pharmacokinetic parameters of methanol and its nearest relative ethanol (higher half-elimination time, lower clearance etc.) are due rather not to physics-chemical features, but because of physiological organism processes.

УДК 616.001.18

## ВПЛИВ ЛОКАЛЬНОЇ КРІОДЕСТРУКЦІЇ ШКІРИ НА ДИНАМІКУ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПЕЧІНКИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ

Сван О.Б., Гудима А.А.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

*Впервые поступила в редакцию 17.09.2007 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 5 от 05.10.2007 г.).*

### Вступ

Проблема збільшення частоти стихійних лих, аварій і катастроф з кожним роком стає все більш актуальною. Вплив екстремальних чинників на організм людини на сьогодні супроводжується комбінованими і політравматичними ураженнями й вимагає патогенетично обґрунтованих методів профілактики і лікування [6].

На сьогодні відомо, що локальний вплив наднизьких температур окрім розвитку запалення і некрозу шкіри зумовлює системний вплив на організм, викликаючи зміни у внутрішніх органах, у тому числі в печінці [3]. Дискусійною продовжує залишатися лікувальна тактика стосовно глибоких кріоуражень шкіри. Одним з її напрямків є рання некректомія в найближчу добу після травмування з подальшим місцевим лікуванням ран і проведенням відновних операцій після стихання явищ запалення [8]. З метою ко-

рекції опікових і механічних дефектів шкіри останніми роками широко впроваджуються ліофілізовані ксенотрансплантати шкіри свині [1]. Однак в умовах кріодеструкції шкіри застосування цього методу лікування вивчено недостатньо.

### Мета роботи

З'ясувати вплив локальної кріодеструкції шкіри на функціональний стан печінки і ефективність її корекції ліофілізованими ксенодермотрансплантатами.

### Об'єкт і методи дослідження

Експерименти виконано на 66 нелінійних білих щурах-самцях масою 170-180 г. Дослідження проводились відповідно до Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин. Тварин поділили на три групи. У першій і другій дослідних групах за методикою Gunas I. et al. (1997) виконували локальну кріодеструкцію шкіри (10 % від загальної площі) [7]. Третя група була контрольною. Через 1 добу після кріодеструкції в першій дослідній