

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ДЕПРИМИРУЮЩИМИ ЯДАМИ

А.В. Носов, В.А. Башарин, Е.Ю. Бонитенко, Н.А. Белякова

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»
Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1
Тел. (812) 567-91-66, E-mail: institute@toxicology.ru*

Резюме. Изучена динамика изменения интенсивности дыхания гомогенатов тканей головного мозга и потребления кислорода белыми беспородными крысами при острых отравлениях депримирующими агентами (этанолом, тиопенталом натрия и 1,4-бутандиолом) в среднелетальных дозах. Показано, что в патогенезе интоксикации важная роль принадлежит снижению интенсивности тканевого дыхания и потребления кислорода животными. Проведена оценка эффективности субстратов энергетического обмена как средств экспериментальной терапии по показателям выживаемости в различные сроки интоксикации. В экспериментах выявлено, что назначение средств метаболической коррекции через 3 ч после введения токсикантов не оказывает положительного влияния на выживаемость экспериментальных животных.

Ключевые слова: этанол, тиопентал натрия, 1,4-бутандиол, сукцинат, креатинфосфат, отравление, депримирующие агенты.

THE CORRECTION OF ENERGY METABOLISM MALFUNCTIONS IN ACUTE DEPRIMATIVE POISONS INTOXICATIONS

A.V. Nosov, V.A. Basharin, E.Yu. Bonitenko, N.A. Belyakova

*Federal State Scientific Institution «Institute of Toxicology Federal Medico-Biological Agency»
Russia, 192019, Saint Petersburg, ul. Bekhtereva, 1,
Tel.(812) 567-91-66, E-mail: institute@toxicology.ru*

Abstract. The dynamics of intensity of rats brain homogenates respiration and oxygen consumption of white rats with acute depressant agents (ethanol, thiopental sodium or 1,4-butanediol) poisoning in medium lethal doses was investigated. It was demonstrated that reducing the intensity of brain tissue respiration and whole-body oxygen consumption played an important role in the pathogenesis of intoxication. Efficiency of energy metabolism substrata as means of experimental therapy on survival rate indicators in various terms of an intoxication was studied. The experiments revealed that the appointment of metabolic correction in 3 h after the toxicant had not positive effect on the survival of experimental animals.

Key words: ethanol, thiopentone, 1,4-butanediol, succinate, phosphocreatine, intoxication, depressant agents

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на снижение количества летальных исходов, вызванных острыми отравлениями, они по-прежнему неизменно входят в тройку «лидеров» среди основных неинфекционных причин смерти в Российской Федерации, при этом большинство отравленных (около 60 %) – это люди трудоспособного возраста 29-40 лет [1].

Причиной наибольшего количества острых отравлений являются депримирующие агенты – соединения, способные угнетать функции центральной нервной системы (ЦНС). Основное место в структуре отравлений этими соединениями принадлежит этанолу и его суррогатам [2]. В клинической практике часто встречаются и отравления производными

барбитуровой кислоты (до 25% от общего числа отравлений), являющиеся причиной смерти для 3% пациентов токсикологических центров [3]. Угнетение функций ЦНС этой группой соединений связано с их модулирующим действием на ГАМК_A-рецепторы [4].

В то же время перечень соединений, вызывающих острые отравления, с которыми сталкиваются практикующие врачи, постоянно расширяется. К таким соединениям можно отнести двухатомный спирт – 1,4-бутандиол, который широко используется в качестве промышленного растворителя и сырья для синтеза полимеров. По оценке экспертов в 2012 г мировое производство 1,4-бутандиола составило 2×10^6 тонн и продолжает возрастать [5]. Клинические проявления токсического действия 1,4-бутандиола, схожие с картиной интоксикации гидроксibuтиратом натрия, а также свободный доступ к бутандиолу на рынке служат причиной употребления данного соединения с целью наркотического опьянения [6].

При отравлении 1,4-бутандиолом в тканях организма под действием алкогольдегидрогеназы образуется 4-гидроксимасляный альдегид, который, в свою очередь, под действием альдегиддегидрогеназы метаболизирует в γ -гидроксимасляную кислоту, хорошо проникающую через гемато-энцефалический барьер. Длительность и выраженность депримирующего действия бутандиола на ЦНС связана с концентрацией его метаболитов в тканях головного мозга [7].

Тяжелые интоксикации этанолом, 1,4-бутандиолом и тиопенталом натрия сопровождаются нарушением сознания, дыхательной недостаточностью и заканчиваются смертью [8, 9, 10]. В динамике отравлений депримирующими агентами токсические эффекты, обусловленные неэлектролитным действием или медиаторными нарушениями сменяются неспецифическими процессами. В то же время депримирующие эффекты при тяжелых интоксикациях могут быть связаны с

формированием типических патологических процессов [11].

Одним из ведущих механизмов формирования выраженных нарушений функций центральной нервной системы при острых тяжелых отравлениях веществами нейротропного действия являются гипоксическая и циркуляторная гипоксия, приводящие к расстройствам энергетического обмена [12].

Одной из важнейших терапевтических задач острого периода тяжелых отравлений на фоне скорейшего выведения токсиканта из организма является минимизация повреждений головного мозга – основа скорого и полного восстановления функциональной активности ЦНС после перенесенной интоксикации. Поиск средств коррекции энергетического дисбаланса, возникающего в клетках при острых тяжелых отравлениях, является одним из перспективных направлений лечения интоксикаций, проявляющихся угнетением функций ЦНС [13].

Целью работы явилось изучение временных параметров адекватной метаболической коррекции энергодефицитных состояний, возникающих на фоне крайне тяжелых отравлений этанолом, 1,4-бутандиолом и тиопенталом натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование выполнено на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г, приобретённых в питомнике Рапполово АМН РФ. Сопоставимость экспериментальных групп обеспечивали рандомизацией выборок, использовавшихся в экспериментах.

Этанол, тиопентал натрия и 1,4-бутандиол вводили животным внутрибрюшинно в среднесмертельной дозе 5,2 г/кг, 85 мг/кг и 1,13 г/кг, соответственно. В каждой группе было не менее 10 животных. За животными

наблюдали в течение 7 сут, оценивая неврологические и вегетативные показатели [14].

В серии экспериментов проводили оценку интенсивности потребления кислорода и реактивности тканевого дыхания в гомогенатах головного мозга крыс.

У животных опытных и контрольных групп в динамике оценивали интенсивность потребления кислорода закрытым камерным методом в аппарате Regnault [15]. Во время респирометрии животных не фиксировали. Продолжительность измерения составляла 5 мин. Результат выражали в мл кислорода на 1 кг массы тела в 1 мин. Исследование проводили через 30 мин, 1, 2, 3, 6 и 24 ч после введения токсикантов.

О влиянии средств метаболической коррекции на аэробный энергетический обмен в условиях интоксикации депримирующими агентами судили по потреблению кислорода *in vitro*. Гомогенаты головного мозга получали с помощью ручного пресса с отверстиями диаметром 0,3 мм, после чего их дополнительно суспендировали в Krebs-Рингер-фосфатном буфере (pH=7,36), содержащем глюкозу 11,1мМ. Подготовка проб осуществлялась на льду. Определение потребления кислорода гомогенатами проводили манометрическим методом в аппарате Варбурга Wa 0110 (производства фирмы «Glaswerke Ilmenau», Германия) при температуре 37°C [16]. Пробы содержали 100 мг ткани в буферном растворе того же состава, что и среда выделения. Исходный объем проб составлял 2 мл. Реактивность системы аэробного дыхания тестировали после 30 мин экспозиции дополнительным внесением в пробы 1 мл раствора сукцината натрия на буферном растворе до конечной концентрации 5 мМ и продолжали измерение еще в течение 30 мин. В контрольные пробы добавляли эквивалентное количество буферного раствора. Потребление кислорода выражали в мкл/(мг_{ткани}·ч).

Влияние вносимого в пробы сукцината натрия рассчитывали по формуле $x=100 Q_5/Q_1$, где x – интенсивность потребления кислорода в присутствии тестируемого вещества (сукцинат натрия), выраженная в % от контрольного уровня; Q_5 – исправленное значение потребления кислорода в присутствии тестируемого вещества, учитывающее только влияние самого вещества с исключением влияния сопутствующих условий (разбавление проб при внесении буферного раствора, накопление в инкубационной среде продуктов метаболизма в ходе инкубации и др.). Величину Q_5 рассчитывали по формуле:

$$Q_5 = Q_1^2 Q_4 / Q_2 Q_3,$$

Q_1 и Q_3 – потребление кислорода контрольной и опытной пробами, соответственно, до внесения тестируемого вещества; Q_2 и Q_4 – то же после внесения в контрольную пробу буферного раствора, а в опытную – сукцината натрия [17].

В качестве возможного средства коррекции нарушений энергетического обмена исследовали сукцинат, пируват и цитрат натрия, глюкозу и фосфокреатин в дозе 5 ммоль/кг. Дополнительно изучали эффективность комплексного сукцинатсодержащего препарата «Цитофлавин», который вводили в дозе 5 ммоль/кг по сукцинат-аниону. Средства метаболической коррекции вводили внутривенно после инъекций этанола, тиопентала натрия и 1,4-бутандиола через 0,5, 1 и 3 ч. Контрольным животным вводили 0,9 % раствор хлорида натрия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые токсиканты после введения животным в течение 5-15 мин приводили к развитию выраженных депримирующих эффектов: нарушению координации движений, угнетению двигательной активности, снижению

мышечного тонуса, боковому положению тела, угнетению поверхностных и глубоких рефлексов с нарастанием нарушений функций дыхательной и сердечно-сосудистой системы.

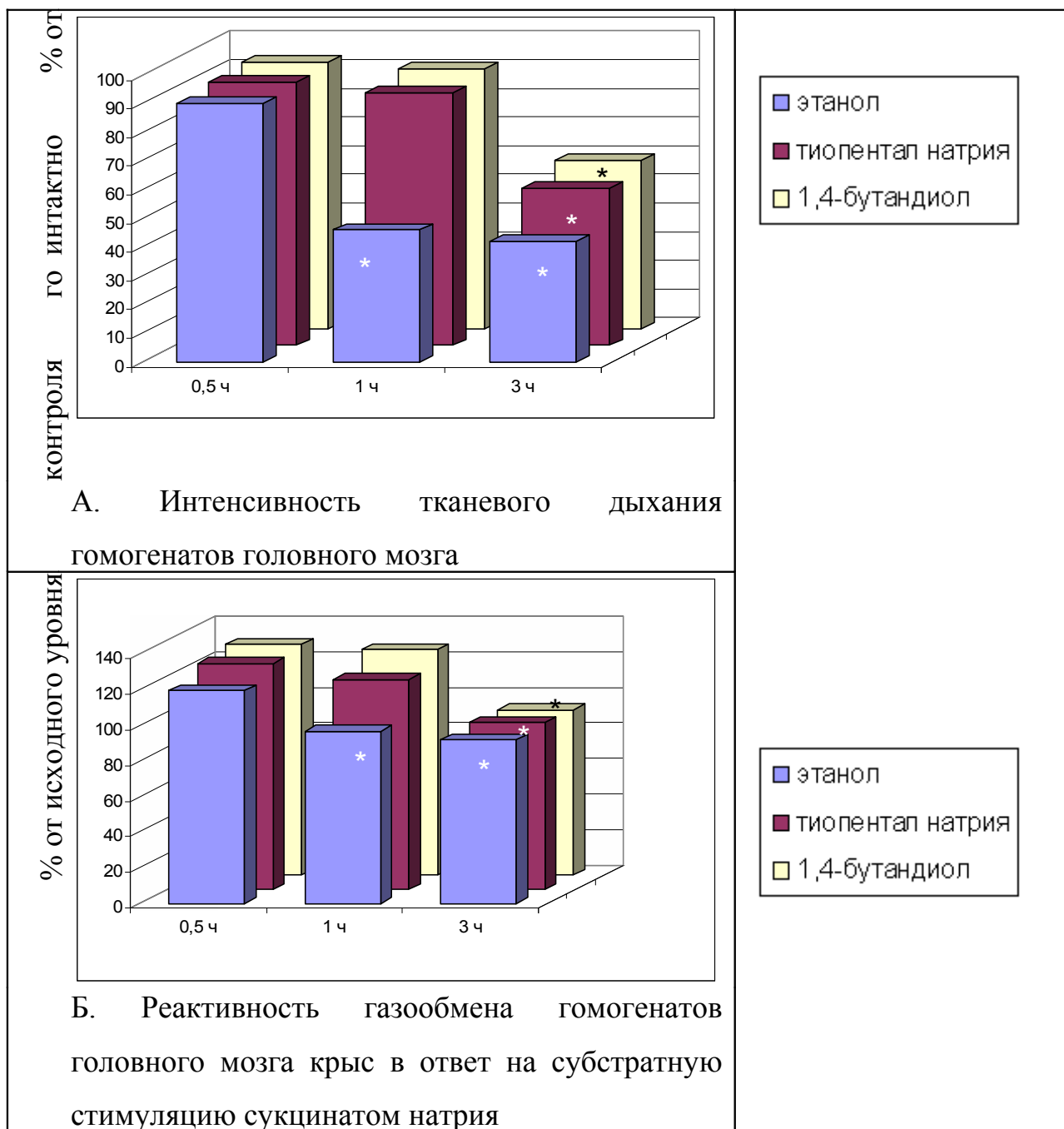


Рисунок 1. Динамика интенсивности дыхания гомогенатов головного мозга и реактивность газообмена гомогенатов при острых отравлениях депримирующими агентами в среднететальной дозе.

Примечание: * – $p < 0,05$ – по сравнению с исходным уровнем.

Потребление кислорода гомогенатами головного мозга у интактных крыс оставалось стабильным на протяжении всего периода наблюдения и составляло $0,64 \pm 0,06$ мкл/(мг_{ткани} · ч). Внесение сукцината в конечной концентрации 0,5 мМ в гомогенаты головного мозга оказывало выраженное стимулирующее действие на интенсивность потребления кислорода, увеличивая данный параметр в среднем на 32 %.

На рисунке 1.А представлена динамика изменения интенсивности дыхания гомогенатов в зависимости от токсиканта. У животных после введения этанола в среднелетальной дозе уже через 1 ч отмечалось выраженное ($p < 0,05$) и стойкое снижение потребления кислорода на 54 % по сравнению с интактными животными. Это сопровождалось также угнетением реактивности газообмена в гомогенатах в ответ на субстратную стимуляцию дыхания сукцинатом (0,5 мМ), что выражалось отсутствием прироста потребления кислорода (рисунок 1.Б).

Интенсивность тканевого дыхания гомогенатов мозга при интоксикациях тиопенталом натрия или 1,4-бутандиолом статистически значимо снижалась в более поздние сроки, по сравнению с интоксикацией этанолом. Через 3 ч величина потребления кислорода была в среднем на 45 и 41 %, соответственно, ниже, чем у интактных животных. В этот же срок прирост потребления кислорода в ответ на субстратную стимуляцию сукцинатом отсутствовал.

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о фазовой динамике нарушений процессов утилизации кислорода на клеточном уровне, которая определяется природой депримирующего агента.

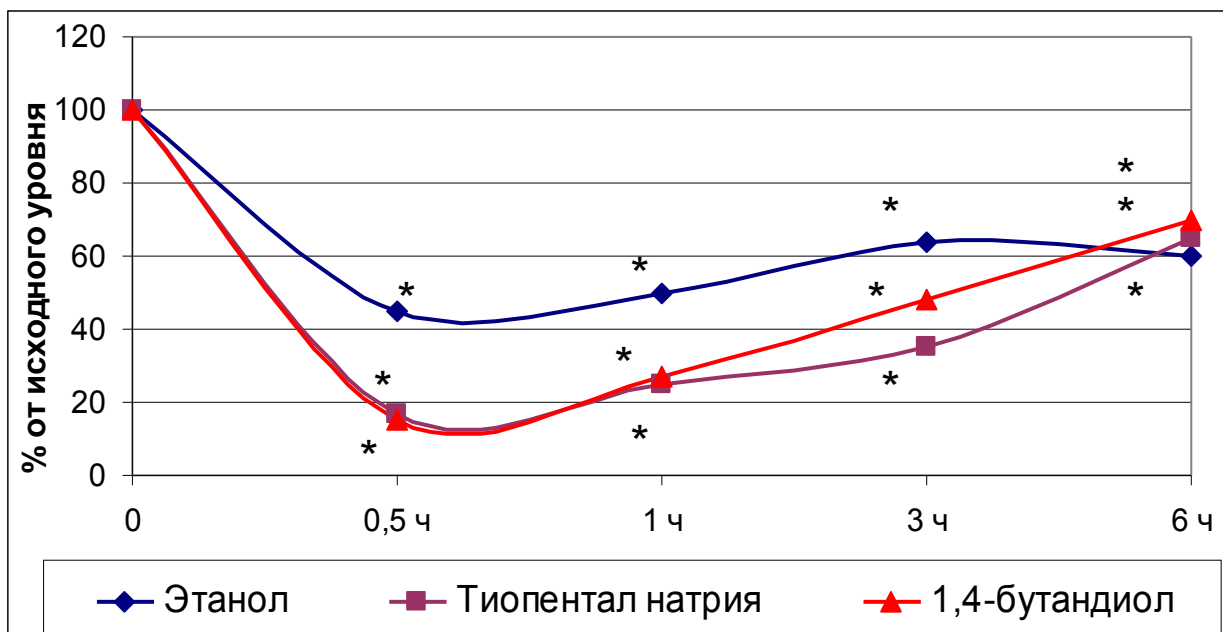


Рисунок 2. Потребление кислорода крысами, отравленными депримирующими агентами в среднелетальной дозе.

Примечание: * – $p < 0,05$ – по сравнению с исходным уровнем.

Изменения интенсивности дыхания гомогенатов тканей головного мозга при интоксикации депримирующими ядами не могут в полной мере отразить расстройства, возникающие на уровне целостного организма, т.к. они не учитывают системных нарушений регуляции массопереноса кислорода.

В отдельной серии экспериментов нами проведена оценка интенсивности потребления кислорода в условиях интоксикации депримирующими агентами. У интактных крыс потребление кислорода составляло в среднем $26,4 \pm 2,0$ мл/мин·кг. Через 0,5 ч после инъекции токсикантов наблюдалось выраженное ($p < 0,05$) угнетение потребления кислорода. При введении тиопентала натрия и 1,4-бутандиола снижение данного показателя составляло 83 и 85 %, соответственно, относительно исходного уровня потребления кислорода животными. В группе крыс, отравленных этанолом, падение потребления кислорода через 0,5 ч было

менее выраженным, чем под влиянием других депримирующих ядов, и составляло 55 %. Во всех исследованных группах животных, отравленных тиопенталом натрия, этанолом и 1,4-бутандиолом, отмечалось постепенное увеличение потребления кислорода, которое, тем не менее, даже через 3 ч исследования было значимо ниже исходного уровня.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о фазности процессов, протекающих в организме при интоксикациях депримирующими ядами, которые могут быть связаны с особенностями токсикокинетики и токсикодинамики веществ. В ранние сроки интоксикации угнетение потребления кислорода целостным организмом можно рассматривать как проявление угнетения активности нейронных ансамблей в соответствующих структурах ЦНС, возникающих вследствие реализации депримирующих эффектов рассматриваемых веществ. В дальнейшем на фоне снижения концентрации токсикантов во внутренних средах организма происходит развитие метаболических расстройств, особенно рано проявляющихся при интоксикациях этанолом [18].

На основании полученных данных о происходящих в организме животных процессах при отравлениях депримирующими агентами была проведена оценка возможности использования средств метаболической коррекции при лечении интоксикаций.

При остром отравлении тиопенталом натрия и 1,4-бутандиолом выявлено, что раннее применение креатинфосфата через 0,5 ч после 1,4-бутандиола сопровождалось статистически значимым снижением летальности на 25 %, отмечалась тенденция к уменьшению количества погибших животных при введении сукцината, цитофлавина и пирувата. Более позднее назначение средств метаболической коррекции (через 3 ч) было неэффективным по данному показателю при сравнении с контрольной группой животных, получавших физиологический раствор.

Экспериментальная терапия, проводимая через 0,5 ч после введения этанола в дозе 1,0 ЛД₅₀, позволила выявить, что глюкоза, сукцинат и цитофлавин повышали выживаемость на 10-20 % ($p>0,05$). Креатинфосфат уменьшал летальность при отравлении этанолом на 26 % ($p<0,05$). В группе крыс, которым вводили цитрат, наблюдалось повышение частоты гибели животных на 24 % ($p<0,05$).

Экспериментальная терапия, проводимая через 1 ч после интоксикации этанолом в дозе 1,0 ЛД₅₀, не отражалась на показателе летальности отравленных животных. После введения креатинфосфата, глюкозы, сукцината, цитофлавина и пирувата данный показатель статистически значимо не отличалась от группы нелеченного контроля. Введение цитрата сопровождалось значимым увеличением частоты гибели животных по сравнению с контролем на 30 % ($p<0,05$).

При введении средств метаболической коррекции через 3 ч после этанола ни один из исследуемых препаратов не оказывал положительного влияния на выживаемость животных. Введение креатинфосфата через 3 часа приводило к более быстрой гибели животных в течение 5-20 минут после инъекции препарата.

Таким образом, в результате проведенного исследования по влиянию субстратов энергетического обмена на течение и исход отравлений этанолом, 1,4-бутандиолом и тиопенталом натрия в среднелетальной дозе было установлено, что назначение средств метаболической коррекции при экспериментальной терапии через 3 ч после начала интоксикации оказывается малоэффективным, а при отравлениях этанолом может сопровождаться увеличением количества погибших животных по сравнению с контролем.

Выводы. Острое отравление веществами депримирующего действия сопровождается уменьшением потребления кислорода животными и

снижением интенсивности дыхания гомогенатов тканей головного мозга. Обнаруженные изменения имеют фазный характер, при этом показатели интенсивности потребления кислорода на организменном уровне демонстрируют снижение значительно раньше, чем на клеточном.

Применение средств метаболической коррекции не оправдано в поздние сроки тяжелой интоксикации этанолом, тиопенталом натрия и 1,4-бутандиолом. В ранние сроки тяжелой интоксикации тиопенталом натрия и 1,4-бутандиолом, несмотря на выраженную дыхательную недостаточность в результате депримирующего действия токсикантов на системную регуляцию дыхания, применение средств метаболической коррекции, например препарата «Цитофлавин», оправдано в качестве компонента комплексной терапии.

Полученные экспериментальные данные могут быть положены в основу дальнейших исследований, направленных на выявление критериев рациональной терапии при тяжелых интоксикациях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- . Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Рожков П.Г. и др. Современное состояние эпидемиологии острых химических отравлений и токсикологической помощи населению // Токсикологический вестник. – 2010. – №. 3. – С. 34-37.
- . Долго-Сабуров В.Б., Петров А.Н., Беляев В.А. О роли окислительного стресса в формировании цитотоксических эффектов этанола // Токсикологический вестник. – 2010. – №. 1. – С. 6–10.
- . Борисевич С.Н., Вергун О.М., Шмигельский А.А. Лабораторная диагностика острых отравлений барбитуратами // Здоровоохранение. – 2011. – №4. – С. 52–55.
- . Korpi E.R., Grunder G., Luddens H. Drug interactions at GABA(A) receptors // Prog. Neurobiol. – 2002. – Vol. 67. – P. 113–159.

- . Jenkins S. Commercial-scale production of bio-based BDO announced / S. Jenkins // Chemical Engineering. – 2013. – February 12: [Электронный документ]. – http://www.che.com/only_on_che/latest_news/Commercial-scale-production-of-bio-based-BDO-announced_10221.html. Проверено 20.12.2013.
- . 1,4-Butanediol (1,4-BD). Pre-Review Report Expert Committee on Drug Dependence Thirty-fifth Meeting. Hammamet, Tunisia, 4-8 June 2012 // World Health Organization, 2012. – 31 p.
- . Irwin R.D. NTP Summary report on the metabolism, disposition and toxicity of 1,4-Butanediol // National toxicology program. – 1996. – № 54. – 28 p.
- . Маркизова Н.Ф., Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю. Спирты. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004. – 112 с.
- . Zvosek D.L. Smith S.W., McCutcheon J.R. et al. Adverse events, including death, associated with use of 1,4-butanediol // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 344, № 2. – P. 87–94.
- . Caldicott D. G. E., Chow F.Y., Burns B. J. et al. Fatalities associated with the use of γ -hydroxybutyrate and its analogues in Australasia / The medical journal of Australia. – 2004. – Vol. 181, № 6. – P. 310–313.
- . Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия – Л.: Медицина, 1986. – 280 с.
- . Калмансон М.Л. Гипоксия и ее коррекция у больных с острыми отравлениями ядами нейротропного действия: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук: 14.00.37 и 14.00.20 / М.Л. Калмансон. – СПб, 2001. – 44 с.
- . Ивницкий Ю.Ю., Рейнюк В.Л., Шеффер Т.В., Носов А.В. Лимитирующие звенья метаболизма – новый фундаментальный аспект проблемы экстремальных состояний радиационной и химической этиологии / Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты – СПб, ООО «Издательство Фолиант», 2004. – С. 91–92.

Бонитенко Е.Ю., Петров А.Н., Башарин В.А. и др. Моделирование токсических ком, вызванных веществами депримирующего действия. /Труды Института токсикологии, посвященные 75-летию со дня основания / Под ред. проф. С.П. Нечипоренко. – СПб.: Элби-СПб. – 2010. – С.16–30.

. Оленьянская Р.П., Исаакян Л.А. Методы исследования газового обмена у человека и животных. – М.: Медгиз, 1959. – 16 с.

. Умбрейт В.В., Буррис Р.Х., Штауффер Д.Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. – М.: Иностранная литература, 1951. – 359 с.

Носов А.В., Ивницкий Ю.Ю., Малаховский В.Н. [Механизмы церебрального лучевого синдрома](#) / Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – №1. – С.48-55.

Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю., Лапина Н.В. Некоторые механизмы нарушения биоэнергетики и оптимизация подходов к их фармакотерапии / Medline.ru. – Т.11. – С.611-634.