

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ
ФАЛЛАЦИДИНА ПОСРЕДСТВОМ ТРАНСПУЛЬМОНАЛЬНОЙ
ТЕРМОДИЛЮЦИИ И АРТЕРИОВЕНОЗНОГО ГРАДИЕНТА ГАЗОВ КРОВИ**

Ховпачев А.А.¹, Башарин В.А.¹, Чепур С.В.², Рагузина Д.В.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, 194044, г. Санкт-Петербург*

² *Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Минобороны России, 195043, г. Санкт-Петербург*

Резюме. Фаллацидин относят к первично зрелым фаллотоксинам — циклопептидным токсинам, продуцируемым грибами с крупными плодовыми телами. Рассматриваемый пептид малоизучен. В частности, не уточнены гемодинамические последствия его токсического действия. Экспериментальное исследование выполнено на кроликах, которым внутривенно вводили фаллацидин в абсолютной смертельной дозе 1,27 мг/кг. Критериями оценки гемодинамических сдвигов у животных служили показатели транспульмональной термодиллюции и интегрального анализа формы пульсовой волны, артерио-венозной разницы транспорта кислорода и углекислого газа, а также количественных сдвигов неврологического статуса. После токсикологических исследований выполняли аутопсию животных, оценивали изменения макро- и микропрепаратов печени. Установлено, что фаллацидин в исследуемой дозе последовательно приводил к токсическому нарушению распределения периферического кровотока, внутреннему кровоизлиянию с признаками массивной кровопотери и повреждению миокарда.

Ключевые слова: фаллацидин; термодиллюция; артерио-венозная разница; токсический шок; кровопотеря; кома; токсины грибов; отравления

**EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE HEMODYNAMIC EFFECTS OF
PHALLACIDIN USING TRANSPULMONAL THERMODILUTION AND
ARTERIOVENOUS BLOOD GAS GRADIENT**

Khovpachev A.A.¹, Basharin V.A.¹, Chepur S.V.², Raguzina D.V.¹

¹ *Federal State Budgetary Military Educational Institution of Higher Education «S.M. Kirov Military Medical Academy» of the Ministry of Defense of Russia, 194044, St. Petersburg*

² *Federal State Budgetary Institution «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of Russia, 195043, St. Petersburg*

Resume. Phallacidin belongs to the primary mature phallotoxins – cyclopeptide toxins produced by macromycetes fruit bodies. The peptide in question belongs to poorly studied compounds. In particular, the hemodynamic consequences of its toxic effect have not been clarified. The experimental study was performed on rabbits. Phallacidin was used in an absolute lethal dose of 1.27 mg/kg. The criteria for assessing hemodynamic shifts in animals were indicators of transpulmonary thermodilution and integral analysis of pulse wave shape, arterio-venous difference in oxygen and carbon dioxide transport, as well as quantitative shifts in neurological status. After toxicological studies, autopsies of animals were performed, changes in macro- and micro-preparations of the liver were evaluated. It was found that phallacidin in the studied dose consistently led to a toxic disturbance of the distribution of peripheral blood flow, internal hemorrhage with signs of massive blood loss, and myocardial damage.

Keywords: phallacidin; thermodilution; arterio-venous gap; toxic shock; blood loss; coma; mushroom toxins; poisoning

Актуальность. При пищевых интоксикациях грибами с крупными плодовыми телами наиболее тяжелым состоянием считают циклопептидный синдром (отсроченный гепатотоксический или фаллоидиновый) [0]. Грибы, ассоциированные с данным синдромом, продуцируют целый ряд токсинов. Главенствующую роль в его реализации справедливо отводят аманитотоксинам. В то же время в отношении остальных токсинов, в частности, фаллацидина – стереотипно считают, что они не всасываются в кишке. Несмотря на укоренившееся представление о местно-кишечной роли фаллацидина,

экспериментально была установлена возможность его резорбции в условиях поврежденного кишечного барьера [2].

Ввиду меньшей клинической значимости, системные эффекты фаллацидина, равно как и остальных фаллотоксинов, изучены существенно хуже по сравнению с аманитотоксинами [0]. Фаллацидин проявляет избирательную гепатотоксичность, из которой вытекают геморрагические проявления его токсического действия. Так, известно, что наиболее раннему разрушению фаллотоксинами подвержены гепатоциты, лежащие апикально по отношению к дольковым сосудам печени, что ведет к кровоизлиянию в ее ткани [3]. При этом в эксперименте наблюдают массивную кровопотерю [4]. Тем не менее, до настоящего времени отсутствуют исследования, изучающие влияние фаллацидина на системное кровообращение. В то же время в клинике циклопептидного синдрома наблюдают как сердечно-сосудистые расстройства, так и геморрагические явления, интерпретируемые через призму токсического процесса, реализуемого аманитотоксинами и множественной органной дисфункции, осложнившей течение интоксикации [5]. В этой связи возникает необходимость проведения экспериментального исследования, позволяющего оценить реакцию системы кровообращения в ответ на введение фаллацидина.

Таким образом, *цель* исследования состояла в экспериментальном изучении гемодинамических эффектов фаллацидина.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 16 кроликах породы «Советская шиншилла» массой 4,0–4,5 кг, полученных из «Питомника лабораторных животных Рапполово» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (пос. Рапполово Ленинградской обл.). В ходе работ выполняли рекомендации по порядку проведения исследований с использованием лабораторных животных, в том числе по гуманному отношению к ним [7].

В качестве токсиканта использовали субстанцию фаллацидина (Sigma-Aldrich, США) с содержанием основного вещества не менее 97 % по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии. Рабочий 0,1% раствор токсина готовили *ex tempore* путем растворения в 0,9 % растворе хлорида натрия (физраствор) (Медполимер, Россия). Испытуемые кролики были поделены на 2 группы по 8 особей. Опытная группа животных получала внутривенно (в/в) фаллацидин в установленной на предварительном этапе исследования суточной абсолютной смертельной дозе $LD_{99}/1 \text{ сут} = 1,27 \text{ мг/кг}$, контрольная – физраствор в аналогичном объеме.

При исследовании гемодинамического профиля фаллацидина у кроликов осуществляли инвазивный гемодинамический мониторинг, оценивали артерио-венозные отношения газов крови и неврологическую функцию.

Инвазивный гемодинамический мониторинг выполняли с помощью аппаратно-программного комплекса (АПК) PiCCOplus (Pulsion Med. Syst., Германия), сочетающего методы интегрального анализа формы пульсовой волны и транспульмональной термодилуции. Ранее на модели детерминированного сердечного выброса было показано, что АПК PiCCOplus обладает приемлемой точностью при работе с кроликами в качестве тест-объектов [9].

Сосудистый доступ для инвазивной оценки показателей кровообращения осуществляли в бедренную артерию и плечевую вену посредством артерио- и венесекции. При выборе катетеризуемых сосудов соблюдали условия, необходимые для адекватного функционирования регистрирующего устройства [10]. Использовали артериальный катетер с термистором (PV2013L07–А) и внутривенный катетер диаметром 3F.

Катетеризацию выполняли с соблюдением правил асептики и антисептики в условиях внутривенной седации тиопенталом натрия (Синтез, Россия) и местной инфильтрационной анальгезии 0,5–2 % раствором лидокаина (Биосинтез, Россия). Делали разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 2–3 см параллельно проекции сосудисто-нервного пучка, который обнажали на всю длину разреза. Используя сложенный зажим или тонкий изогнутый пинцет, необходимый сосуд изолировали сначала в составе сосудисто-нервного пучка от окружающих тканей, а затем – из сосудистой фасции. Подводили под него две шовные лигатуры, которые затем разводили в противоположные углы раны. Дистальную лигатуру перевязывали. Далее приподнимали проксимальную лигатуру и надсекали микроножницами обескровленный участок сосуда наполовину, под углом 30–45 °. В полученный дефект краниально заводили катетер, оценивали адекватность обратного тока крови. Далее на катетере завязывали проксимальную лигатуру, фиксировали его, ушивали рану нерассасывающимся шовным материалом, накладывали асептическую наклейку.

Сердечный выброс (СВ) определяли после трех-пятикратной термодилуции 2,0 мл физраствора с температурой менее 8 °С. Значения с разбросом менее 10 % усредняли. Индивидуальные измерения, сопровождаемые аномальной кривой термодилуции, в расчет не брали. После очередного введения индикатора фиксировали глобальный конечно-диастолический объем (ГКДО), внесосудистую воду легких (ВСВЛ). Далее

постоянно оценивали ударный объем (УО), среднее артериальное давление (СрАД), вариабельность ударного объема (ВУО) и пульсового давления (ВПД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), индекс сократимости левого желудочка (ИСЛЖ), температуру артериальной крови (tарт) животных. В точках съема показателей и в случае выраженного изменения гемодинамического статуса выполняли очередную серию термодилуций.

Забор крови для оценки расчетных показателей, характеризующих функциональную достаточность кровообращения, осуществляли в шприц-пробирки Monovette с литиевой солью гепарина (Sarstedt, Германия) в объеме 1 мл. Гепаринизированную кровь хранили не более 12 ч при 4 °С.

Определение показателей клинического анализа крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-2800 Vet (Mindray Med. Intern. Lim., Китай) с импедансным способом регистрации частиц. Оценивали количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, концентрацию гемоглобина в эритроците, содержание тромбоцитов, тромбоциты и лейкоцитарную формулу.

Оценку газотранспортной функции артериальной и венозной крови проводили при помощи газоанализатора ABL800 (Radiometer Med. ApS, Дания). Определяли показатель кислотности (pH), парциальное давление кислорода (pO₂), сатурацию гемоглобина (SO₂), парциальное давление углекислого газа (pCO₂), концентрацию стандартного бикарбоната (HCO₃⁻), избыток или дефицит оснований (BE (BD)), а также метаболические показатели – лактат и глюкозу.

На основании показателей системной гемодинамики, гематологического и газового состава крови производили вычисление доставки DO₂ (1) и потребления VO₂ (2) кислорода.

$$DO_2 \text{ [мл/мин]} = CtaO_2 \times CB, \quad (1)$$

$$VO_2 \text{ [мл/мин]} = (CtaO_2 - CtvO_2) \times CB, \quad (2)$$

где CB – сердечный выброс, [л/мин];

CtxO₂ – концентрация кислорода в крови, [мл/л];

x = a – артериальная кровь, x = v – венозная кровь.

Коэффициент экстракции кислорода (O₂ER) определяли по уравнению (3), концентрацию кислорода для артериальной (CtaO₂) и венозной крови (CtvO₂) – по формуле (4), показатель отношения венозно-артериальной разницы напряжения

углекислого газа к артерио-венозной разнице концентрации кислорода ($\Delta p(v-a)CO_2/\Delta Ct(a-v)O_2$) – по формуле (5). Кроме этого, при помощи индекса оксигенации (ИО), представляющего соотношение (6), оценивали эффективность легочного газообмена [11].

$$O_2ER [\%] = \frac{VO_2}{DO_2} \times 100 = \frac{CtaO_2 - CtvO_2}{CaO_2} \times 100, \quad (3)$$

$$CtxO_2 [\text{мл/л}] = \left(1,34 \times Hb \times \frac{SxO_2}{100} \right) + (0,0031 \times pxO_2), \quad (4)$$

$$\frac{\Delta p(v-a)CO_2}{\Delta Ct(a-v)O_2} [\text{отн. ед}] = \frac{pvCO_2 - paCO_2}{CtaO_2 - CtvO_2}, \quad (5)$$

$$ИО [\text{отн. ед.}] = \frac{paO_2}{FiO_2}, \quad (6)$$

где Hb – концентрация гемоглобина, [г/л];

Ct – концентрация соответствующего газа в крови, [мл/л];

p – напряжение соответствующего газа в крови, [мм рт.ст.];

SxO₂ – насыщение кислородом гемоглобина, [%];

x = a – артериальная кровь, x = v – венозная кровь;

FiO₂ – объемная доля кислорода на вдохе, [абс.].

О степени недостаточности церебральной перфузии судили посредством оценки неврологических показателей: спонтанного поведения и реакции избегания при взятии на руки, тонуса мышц, поисковой реакции на открытом пространстве, реакции на обонятельный раздражитель, аудиомоторной реакции в ответ на звуковой раздражитель, ответа на тактильный и болевой раздражитель, рефлекса переворачивания, зрачкового, корнеального и глоточного рефлексов [8].

Оценку гемодинамического профиля выполняли в четырех контрольных временных промежутках (точках), в зависимости от периода относительно начала эксперимента и функционального состояния животных. Фоновые гемодинамические, гематологические, артериальные и венозные газотранспортные показатели регистрировали перед началом исследования. Далее, через 1,5 и 3 ч в обеих группах осуществляли регистрацию только системного кровообращения. В четвертой точке оценивали показатели кровообращения и лабораторные сдвиги. По времени выполнения данная точка отличалась между контрольной и опытной группами. В опытной группе показатели фиксировали при развитии поверхностной комы. Оценку сдвигов в

контрольной группе выполняли в временной интервал, превышавший предельные сроки развития комы в опытной группе.

Выведение контрольных животных после окончания токсикологических исследований осуществляли посредством передозировки тиопентала натрия. Далее выполняли аутопсию и гистопатологическое изучение препаратов печени. Для этого полученный материал фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина с pH 7,3, обезжизивали, заливали в парафин и заготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином [6].

Сбор, хранение, первичную обработку полученных в ходе исследований данных осуществляли в Office Excel 2016, статистический анализ – Statistica 10.0. О нормальности распределения значений в выборках судили по критерию Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде $Me [Q_{25}; Q_{75}]$, где Me – медиана, Q_x – соответствующий квартиль. Сравнение мер центральной тенденции двух независимых выборок количественных признаков выполняли при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни, зависимых – критерия Уилкоксона. Для сравнения трех и более независимых групп использовали непараметрические критерии Крускала-Уоллиса и Ньюмена-Кейлса для множественных попарных сравнений, для повторных зависимых использовали критерий Уилкоксона с поправкой Бонферрони. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при $p < 0,05$. В случае превышения данного уровня значимости принимали нулевую гипотезу.

Результаты. Токсическое действие фаллацидина в дозе ЛД₉₉ вызывало у кроликов снижение подвижности и развитие мышечной слабости, переходящей в атонию и боковое положение, депрессию болевой чувствительности и стволовых рефлексов. Гибель грызунов наступала на фоне коматогенной дыхательной и сердечной недостаточности, продолжительность жизни составила 3,9 [3,5; 4,3] ч.

Выбор поверхностной комы как четвертой точки фиксации исследуемых показателей был опосредован соответствию данного состояния развернутой картине крайне тяжелой интоксикации, которая влекла неизбежную гибель грызунов. Данная степень депримации у кроликов проявлялась потерей активного положения и утратой локализованной болевой чувствительности при сохранении зрачкового, корнеального и глоточного рефлексов. Поверхностную кому в опытной группе наблюдали спустя 3,8 [3,4; 4,1] ч после начала интоксикации.

Гемодинамический фон в опытной и контрольной группах не отличался и представлял вариант нормокинетического типа кровообращения кроликов. Так, контрольные показатели, характеризующие минутную производительность сердца, составляли: СВ – 0,79 [0,72; 0,89] л/мин, УО – 4,1 [4,05; 4,31] мл, ЧСС – 238,0 [230,3; 253,7] уд/мин; сократимость миокарда: ВУО – 10,5 [9,0; 12,0] %, ИСЛЖ – 830 [790; 850] о.е., ГФИ – 29,5 [26,0; 33,0] %; постнагрузку: среднее АД – 89,0 [86,0; 94,0] мм рт.ст., ОПСС – 7550 [6900; 7980] $\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5}$; волюмометрические характеристики преднагрузки: ГКДО – 77,1 [62,0; 100,1] мл, и легких: ВСВЛ – 33,5 [32,0; 46,0] мл.

При оценке фоновых показателей газового состава артериальной крови наблюдали метаболический лактат-ацидоз в отсутствии респираторной компенсации, варьиравший от слабо до умеренно выраженного: pH – 7,3 [7,26; 7,35], раСО_2 – 36,0 [34,5; 39,0] мм рт. ст., BE – -4,6 [-6,1; 2,2] мМ, НСО_3^- – 19,2 [18,1; 21,4] мМ, лактат – 4,0 [2,6; 4,6] мМ.

При расчете показателей газообмена в исходном состоянии установлено, доставка DO_2 составила 25,6 [24,3; 27,7] мл/кг $\times$ мин, потребление VO_2 – 10,4 [9,5; 11,4] мл/кг $\times$ мин, а коэффициент экстракции O_2ER – 40,3 [35,6; 41,9] %. При сравнительной оценке артерио-венозного градиента газового массопереноса и расчета интегральных коэффициентов выявлены их следующие значения: $\Delta\text{Ct(a-v)}\text{O}_2$ – 36,0 [35,83; 39,5] мл/л и $\Delta\text{p(v-a)}\text{CO}_2$ – 7,9 [7,4; 8,4] мм рт. ст.

Таким образом фоновые показатели были в пределах референсных значений для кроликов и отражали адекватно выдержанный период от окончания операции до начала токсикологических исследований как в контрольной, так и опытной группах.

В контрольной группе показатели кровообращения и газового массопереноса значимо не изменялись спустя 1,5 и 3 ч, а также через 4,5 ч наблюдения. Единственным отличием было снижение в точке 4,5 ч концентрации гемоглобина по отношению к исходному показателю на 13 %. Данный сдвиг, по всей видимости, был связан с повторными термодилуциями физраствором и отражал возможный вклад процесса калибровки АПК в изменения, полученные в опытной группе в аналогичные сроки наблюдения. Тем не менее, несмотря на это, гематокрит так и не достиг значимых различий с фоном, а газовые коэффициенты не отличались от исходных показателей.

Установлено, что введение фаллацидина в дозе ЛД₉₉ приводило к сдвигу показателей центральной гемодинамики (таблица 1) и газового массообмена (таблица 2).

В опытной группе животных сдвиги в системной циркуляции крови начинали отмечать уже к 30 мин исследования. К 1,5 ч наблюдений они приобретали отчетливые признаки гиперкинетического типа кровообращения. Изменения показателей проявились приростом минутной производительности сердца и его сократимости в сочетании со снижением показателей постнагрузки. В дальнейшем, к 3 ч выявляли трансформацию данного типа кровообращения в состояние, которое можно было расценивать как синдром малого сердечного выброса в условиях сниженной резистивности сосудов и отсутствия ожидаемого повышения преднагрузки.

Показатели минутной производительности сердца опытных кроликов во второй и третьей контрольной точках носили диаметрально противоположный характер. Так, по отношению к фоновому показателю СВ – 0,87 [0,80; 0,93], к 1,5 ч минутный объем кровообращения увеличивался до 1,27 [1,21; 1,31] л/мин и в дальнейшем к 3 ч снижаясь до отметки 0,60 [0,56; 0,79] л/мин. При этом, к 3 ч на фоне развития выраженной тахикардии наблюдали критическое снижение разовой производительности: УО – 2,11 [1,58; 3,58] мл.

В целом, найденные к 1,5 ч изменения можно было интерпретировать как нарушение сосудистого тонуса в условиях компенсации повышенной производительностью миокарда. К 3 ч наблюдений данный компенсаторный механизм, направленный на поддержание перфузионного давления, истощался. В результате этого наблюдаемая в третьей точке картина соответствовала декомпенсации кровообращения и носила черты критического сдвига.

К моменту формирования у опытных грызунов поверхностной комы наблюдали почти двукратное по отношению к фону снижение АД и сосудистого сопротивления кровотоку. Падали минутный объем кровообращения и разовая производительность сердца.

Таблица 1

**Изменение показателей гемодинамики кроликов
в различные сроки после внутривенного введения фаллацидина в дозе ЛД₉₉ (Ме [Q₂₅; Q₇₅], n = 8)**

Показатель, единица измерения	Срок исследования							
	Фон		1,5 ч		3 ч		4,5 ч	Кома
	Контроль	Фаллацидин	Контроль	Фаллацидин	Контроль	Фаллацидин	Контроль	Фаллацидин
1	2	3	4	5	6	7	8	9
T _{арт} , °C	39,25 [38,75; 39,6]	39,1 [38,8; 39,12]	38,9 [38,5; 39,3]	38,75 [38,4; 39,1]	39,15 [38,6; 39,4]	38,61 [38,3; 39,5]	39,1 [38,9; 39,3]	38,3 [38,6; 39,1]
ЧСС, уд/мин	238,0 [230,3; 253,7]	225,3 [216,1; 236,5]	248,0 [242,5; 256,6]	226,8 [223,5; 234,5] ##	246,0 [240,0; 254,0]	289,5 [265,0; 292,75] ***###	222,0 [216,0; 245,0]	181,0 [166,5; 204,0] ***##
СВ, л/мин	0,79 [0,72; 0,89]	0,87 [0,80; 0,93]	0,83 [0,78; 0,87]	1,27 [1,21; 1,31] ***###	0,84 [0,76; 0,88]	0,60 [0,56; 0,79] *##	0,81 [0,77; 0,87]	0,28 [0,26; 0,29] ***###
УО, мл	4,1 [4,05; 4,31]	4,0 [3,96; 4,04]	4,04 [3,74; 4,2]	5,64 [5,42; 5,84] ***###	3,92 [3,86; 4,08]	2,11 [1,58; 3,58] ***##	4,0 [3,95; 4,3]	1,75 [1,62; 1,8] ***###
ВУО, %	10,5 [9,0; 12,0]	11,0 [9,5; 11,0]	11,7 [9,0; 12,0]	16,0 [11,0; 18,5] **#	13,0 [9,0; 14,0]	26,0 [16,0; 30,0] ***###	14,25 [11,25; 15,5]	18,0 [14,0; 21,5] ***##

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
ИСЛЖ, о.е.	830 [790; 850]	740 [718,5; 870]	810 [740; 840]	951 [912,5; 1040] ***###	740 [700; 820]	630 [595; 750] ***#	730 [797,5; 829]	535,0 [490; 575] ****##
ГФИ, %	29,5 [26,5;33,0]	30,0 [25,0; 32,0]	30,0 [26,0; 32,0]	28,0 [25,5; 33,8]	28,5 [26,0; 31,0]	23,0 [21,7; 28,0]	30,5 [30,0; 31,5]	22,0 [17,0; 27,0] ***##
СрАД, мм рт. ст.	89,0 [86,0;94,0]	90,0 [87,0; 95,0]	93,0 [89,5; 98,5]	83,50 [73,7; 86,5] *##	93,0 [89,0; 98,0]	60 [54,5; 67,5] ***####	96,0 [92,0;104,0]	34 [32,2; 36,7] ***####
ОПСС, дин×с×см ⁻⁵	7550 [6900; 7980]	8050 [7350; 8661]	7400 [6871; 7800]	5245 [5175; 5780] ***####	7260 [7105; 7533]	3677 [3228; 4500] ***####	9150 [8350; 9661]	2277 [2020; 2597] ***####
ГКДО, мл	77,1 [62,0; 100,1]	56,0 [46,4; 71,5]	71,5 [56,0; 90,0]	60,9 [55,5; 71,1]	84,0 [64,4; 125,0]	54,0 [44,4; 85,0]	92,5 [86,0; 100,1]	72,0 [68,4; 89,4]
ВСВЛ, мл	33,5 [32,0; 46,0]	27,0 [22,0; 47,7]	28,0 [25,0; 33,0]	34,0 [23,2; 42,0]	32,0 [28,0; 45,0]	46,25 [32,0; 75,0]	37,0 [33,5; 41,25]	55,0 [42,0; 74,0]

Примечания:

– различия с фоном значимы по критерию Уилкоксона с поправкой Бонферрони –* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.– различия с группой «контроль» значимы по критерию Манна-Уитни – # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$.

**Изменение показателей газового массообмена и метаболизма кроликов
после внутривенного введения фаллацидина в дозе ЛД₉₉ (Ме [Q₂₅; Q₇₅], n = 8)**

Показатель, ед. измерения	Срок исследования			
	Фон		4,5 ч	Кома
	Контроль	Фаллацидин	Контроль	Фаллацидин
Гемоглобин, г/л	156,0 [144,4; 155,5]	147,3 [140,0; 149,5]	135,5 [127,25; 136,5] *	77,5 [65,7; 91,5] *** ###
Гематокрит, %	48,0 [46,25; 57,0]	45,0 [42,5; 49,0]	43,5 [40,5; 49,75]	21,25 [15,0; 25,5] *** ###
Глюкоза, г/л	8,0 [5,2; 9,2]	7,4 [6,5; 8,6]	8,2 [7,3; 9,0]	18,4 [14,7; 21,3] *** ###
Лактат, г/л	4,0 [2,6; 4,6]	5,2 [3,2; 6,6]	4,8 [2,9; 5,9]	23,5 [18,4; 24,6] *** ###
DO ₂ , мл/кг×мин	25,6 [24,3; 27,7]	26,3 [23,5; 27,5]	23,6 [22,3; 26,5]	6,6 [6,39; 7,79] *** ###
VO ₂ , мл/кг×мин	10,4 [9,5; 11,4]	11,0 [10,3; 12,0]	9,87 [9,5; 10,25]	4,25 [3,93; 4,87] *** ###
O ₂ ER, %	40,3 [35,6; 41,9]	38,2 [32,3; 43,5]	42,5 [37,7; 46]	67,8 [54,2; 78,4] *** ###
ΔCt(a-v)O ₂ , мл/л	36,0 [35,8; 39,5]	36,5 [33,36; 40,75]	37,5 [32,75; 40,25]	69,46 [65,9; 75,1] *** ###
Δp(v-a)CO ₂ , мм рт.ст.	7,9 [7,4; 8,4]	7,6 [7,1; 7,85]	7,05 [6,75; 7,25]	19,5 [17,75; 20,5] *** ###
ΔCt(a-v)O ₂ / Δp(v-a)CO ₂ , о.е.	0,17 [0,17; 0,19]	0,18 [0,18; 0,19]	0,18 [0,18; 0,20]	0,28 [0,27; 0,30] *** ###
Примечания: – различие с фоном значимо по критерию Уилкоксона – * – p < 0,05; *** – p < 0,001. – различие с группой «контроль» значимо по критерию Манна-Уитни – ### – p < 0,001.				

Рассмотренные изменения со стороны миокарда сопровождались нарушениями эластических свойств артериального сосудистого русла. Так, к 1,5 ч наблюдений последние характеризовались только снижением ОПСС до 5245 [5175; 5780] дин×с×см⁻⁵ в условиях относительно неизмененного среднего АД – 83,5 [73,7; 86,5] мм рт.ст. Далее, к 3 ч наблюдали снижение среднего АД до 60,0 [54,5; 67,5] мм рт.ст., а ОПСС – до 3677 [3228; 4500] мм рт.ст.

По сравнению с показателями, полученными к 3 ч наблюдений, при развитии комы обнаруживали запредельную депрессию СВ до 0,28 [0,26; 0,29] л/мин. По сравнению с данной точкой также наблюдали снижение ЧСС ($p = 0,0008$), ИСЛЖ ($p = 0,021$) и фракции изгнания УО ($p = 0,045$), что свидетельствовало о возникновении за истекший период массивного повреждения миокарда. В дальнейшем, после возникновения неврологических нарушений, животные гибли в пределах 20–40 мин на фоне развития брадикардии и ее перехода в асистолию.

К особенностям наблюдаемых отношений преднагрузка-сократимость следовало отнести отсутствие прироста такого показателя преднагрузки как ГКДО. Данная закономерность отражает исключительный вклад гиповолемии вследствие кровопотери в декомпенсацию кровообращения. Так, степень тяжести волемического эффекта кровопотери характеризовало двукратное снижение концентрации гемоглобина до 77,5 [65,7; 91,5] г/л, а гематокрита до 21,8 [15,4; 23,2] %. В гемограммах животных этим изменениям сопутствовали выраженные лимфо- и лейкопения, а также запредельная тромбоцитопения до 22,5 [15,6; 28,0] $\times 10^9$ /л. Динамику прогрессирующей гиповолемии также отражало нарастание вариабельности ударного объема и пульсовой волны. Так, показатель ВУО возрастал от изначального значения 11,0 [9,5; 11,0] % до 26,0 [16,0; 30,0] % к 3 ч наблюдений, тем самым отражая развитие гиповолемии высокой степени градации.

В артериальной крови кроликов в коме наблюдали запредельный лактат-ацидоз. Так, показатели КОС и газового состава крови составляли: pH – 6,84 [6,81; 6,9], $p\text{aCO}_2$ – 29,0 [27,5; 33,5] мм рт. ст., BE – -26,2 [-29,5; -22,1] мМ, HCO_3^- – 8,3 [5,9; 9,4] мМ, лактат – 23,5 [18,4; 24,6] мМ. На этом фоне индекс оксигенации составлял 476 [392; 614] мм рт. ст. ($\text{FiO}_2 = 21$ %) отражая гипервентиляцию в условиях сохранной функции легких. О верности последней гипотезы также свидетельствовало отсутствие ожидаемого в условиях нарушения работы миокарда прироста гидратации легочной ткани: ВСВЛ – 55,0 [42,0; 74,0] мл.

По сравнению с фоновыми и контрольными значениями у опытных грызунов наблюдали существенное снижение показателя DO_2 до 6,6 [6,39; 7,79] мл/кг $\times$ мин. Параллельно этому выявляли выраженную депрессию потребления VO_2 до 4,25 [3,93;

4,87] мл/кг×мин, а также прирост O_2ER до 67,8 [54,2; 78,4] %, что позволило определить наблюдаемое у кроликов состояние как шок.

Интоксикация фаллацидином приводила к двукратному снижению концентрации кислорода в артериальной крови до $StaO_2 = 101,3$ [86,2; 121,7] мл/л, обусловленному потерями гемоглобина. Тем не менее, в условиях сопутствовавшей этому сдвигу тяжелой депрессии венозной сатурации гемоглобина, достигавшей 12,7 [8,5; 22,4] %, артерио-венозный градиент $\Delta Ct(a-v)O_2$ прирастал по сравнению с фоном до 69,4 [65,9; 75,1] мл. Нарушениям массопереноса кислорода сопутствовали признаки гипоперфузии в виде колоссального прироста $\Delta p(v-a)CO_2$ с фонового значения 7,9 [7,4; 8,4] мм рт.ст. до 19,5 [17,75; 20,5] мм рт.ст. Установленные показатели значительно переступали выявленные на предварительном этапе исследования пороговые (критические) по эффекту развития шока значения: $\Delta Ct(a-v)O_2$ crit – 47,5 [42,0; 51,0] мл/л и $\Delta p(v-a)CO_2$ crit – 9,5 [8,0; 10,0] мм рт.ст. Таким образом, полученные данные можно было интерпретировать как возникновение системных гипоксии и гипоперфузии. При этом, соотношение рассматриваемых коэффициентов составило $\Delta Ct(a-v)O_2 / \Delta p(v-a)CO_2$ 0,28 [0,27; 0,30] о.е. Двукратный прирост последнего показателя по отношению к исходным и контрольным значениям характеризовал ведущую роль геморрагического и кардиального компонентов нарушений перед сосудистыми сдвигами на терминальной стадии интоксикации.

Очевидной причиной кровопотери у кроликов выступало кровоизлияние печени, массивность которого была прослежена в ходе аутопсии. Макропрепараты печени погибших особей по сравнению с контрольными были 1,5–2 раза увеличены в размере, окрашены в темно-багровый цвет, на срезе носили более рыхлый характер. При микроскопии стандартно окрашенных гематоксилином и эозином препаратов обнаруживали грубые перипортальное геморрагическое пропитывание на фоне мостовидных некрозов, сплошных полей вакуолизации гепатоцитов и выраженной гидропической дистрофии (рисунок 1).

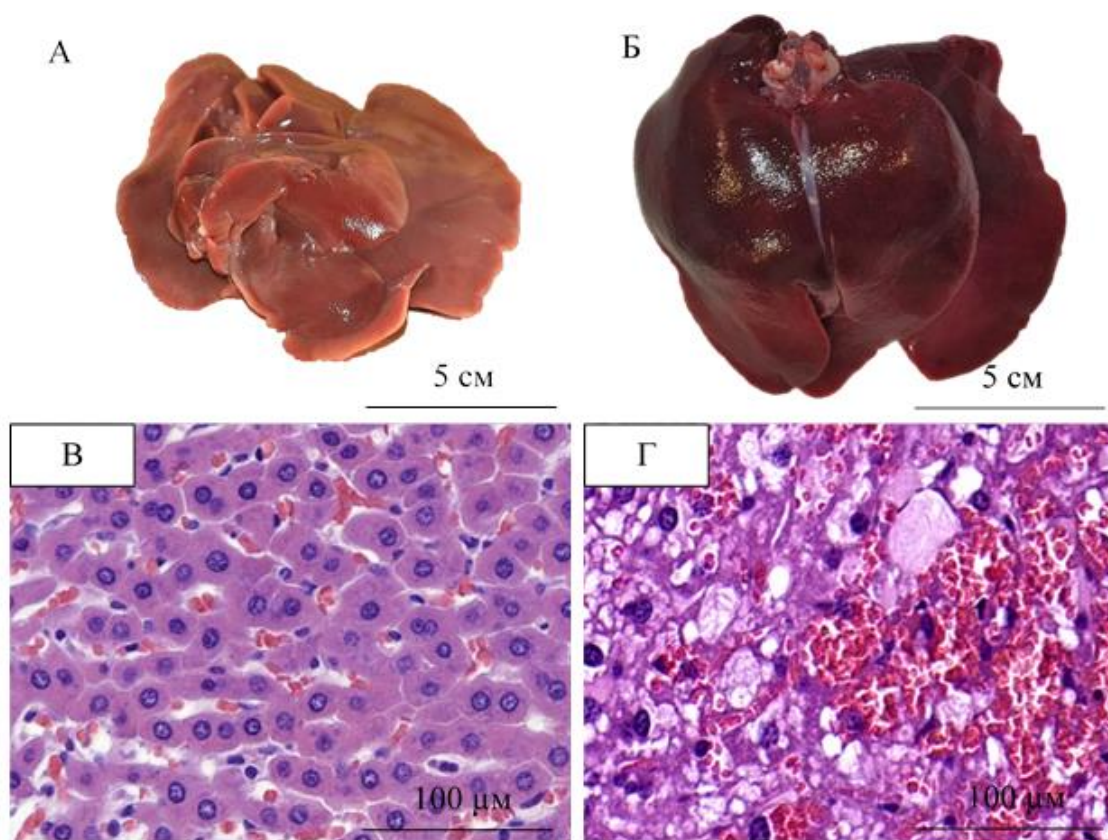


Рисунок 1 – Геморрагический некроз печени: темно-бардовый цвет макропрепарата (Б), строма перипортальной зоны дольки заполнена деформированными эритроцитами на фоне некроза гепатоцитов с внутриклеточными включениями фибрина (Г). Представлены препараты печени кролика после интоксикации фаллацидином в дозе 1,27 мг/кг (Б, Г) против контроля (А, В). Окр. – гематоксилин и эозин.

Заключение. В ходе исследования было установлено, что в основе обнаруженных у животных количественных неврологических нарушений и мышечной слабости лежали функциональные и морфологические сдвиги. В целом, наблюдаемые явления укладывались в представления о токсическом действии фаллацидина, который, повреждая актиновые структуры, нарушает цитокinesis, везикулярный транспорт, движение органелл, поддержание общей формы клетки, тем самым вызывая одномоментный некроз критического числа гепатоцитов [12]. Полученные данные также позволяют предположить ведущую роль циркуляторной гипоксии и гипоперфузии в формировании депримации и гибели кроликов.

Существенно, что фаллацидин приводил к развитию у грызунов к персистирующей элевации сывороточного лактата, опосредованной снижением его клиренса в условиях печеночной недостаточности. В данном патофизиологическом

контексте лактат теряет свою валидность в качестве маркера развития шока [13]. В этой связи в представленной серии наблюдений был использован подход, основанный на принципе Фика, описывающем закономерность изменения артерио-венозной разницы содержания O_2 и CO_2 от степени достаточности кровообращения функциональным потребностям биологической системы.

Учитывая структуру, сроки формирования и выраженность выявленных в системном кровообращении сдвигов, вероятно следующая последовательность их причинной обусловленности. На ранних этапах прослеживали нарастание признаков нарушения резистивности периферического кровотока с относительно сохранной работоспособностью миокарда. Нарушение резистивности носило перераспределительный характер и, по всей видимости, было обусловлено эндогенной интоксикацией в результате поражения печени и внутрисосудистой утечки содержимого ее гепатоцитов. В дальнейшем наблюдали срыв этой компенсаторной реакции, который может быть объяснен как усилением интенсивности аутоинтоксикации, так и присоединением развивающейся кровопотери. По уровню сдвига гемоглобина и гематокрита, объем излившейся крови у опытных животных приближался к 50 % от изначального, что можно рассматривать как массивную кровопотерю с признаками развивающегося диссеминированного свертывания. Далее, в терминальной стадии шок приводил к острому повреждению миокарда. Основными механизмами развития повреждения необходимо рассматривать запредельную ацидемию и падение коронарного перфузионного давления. При этом наиболее важная детерминанта последнего – диастолическое АД, снижение которого менее 20 мм рт. ст. критично [11].

Резюмируя изложенное можно заключить, что фаллацидин в коматогенной дозе инициирует токсический шок. Гемодинамические эффекты токсина развиваются в следующей последовательности: нарушение перераспределения периферического кровотока с формированием шунтирования (дистрибутивный эффект) → острая массивная кровопотеря (гиповолемический эффект) → истощение гиперкинетического механизма компенсации гипоксии и гипоперфузии → развитие ишемического повреждения миокарда со снижением сердечного выброса (кардиальный эффект) → гибель по механизму брадикардии-асистолии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений грибами: Пособие для врачей / Ред. Е.Ю. Бонитенко. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2016.
2. Sun J., Zhang Y.T., Niu Y.M., et al. Effect of biliary drainage on the toxicity and toxicokinetics of *Amanita exitialis* in Beagles // *Toxins*. 2018. Vol. 10, № 6. P. 21-25.
3. Agostini B., Govindan V., Hofmann W. Morphological changes induced by phalloidin in the rat liver // *Pathogenesis and Mechanisms of Liver Cell Necrosis* / Ed. D. Keppler. Dordrecht: Springer, 1975. P. 175–193.
4. Wieland T. The toxic peptides from *Amanita* mushrooms // *Int. J. Pept. Prot. Res.* 1983. V. 22, № 3. P. 257–276.
5. Мусселиус С.Г., Рык А.А. Отравления грибами. М.: Демиург-АРТ, 2002.
6. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии : Руководство // Ред. Д.Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит, 2013.
7. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.: Rus-LASA, 2012.
8. МР ФМБА России 21.10–13. Моделирование интоксикаций депримирующими агентами и оценка выраженности депримирующего эффекта. М.: [б.и.], 2013.
9. Ховпачев А.А., Лиев П.С., Потапов П.К., Башарин В.А. Преимущество определения показателя веноартериального градиента парциального давления углекислого газа перед содержанием лактата в крови кроликов (Экспериментальное исследование) // Сборник статей II всероссийской НТК «Состояние и перспективы развития науки и техники по направлению «Биотехнические системы и технологии»: в 2 т. Т. 2. Анапа, 2020. С. 147–154.
10. PiCCO2© / PiCCO© service manual software versions 1.x to 3.1. [Text: electronic] – Feldkirchen: PULSION Med. Syst. SE., 2012. – 68 p. – Available at: <https://www.yumpu.com/en/document/read/25589922/service-manual-picco2-english-pulsion-medical-systems-se>. (Accessed : 12.02.2023).
11. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1988.
12. Pospich S., Merino F., Raunser S. Structural effects and functional implications of phalloidin and jasplakinolide binding to actin // *Structure*. 2020. V. 28, № 4. P. 437–449.
13. Hernandez G., Bellomo R., Bakker J. The ten pitfalls of lactate clearance in sepsis // *Intensive Care Med*. 2019. Vol. 45. P. 82–85.

REFERENCES

1. Clinic, diagnosis, treatment, forensic medical examination of mushroom poisoning: A manual for doctors / Ed. E.Y. Bonitenko. SPb.: ELBI-SPb, 2016. (in Russian).
2. Sun J., Zhang Y.T., Niu Y.M., et al. Effect of biliary drainage on toxicity and toxicokinetics of *Amanita exitialis* in beagles // *Toxins*. 2018. Volume 10, No. 6. P. 21-25.
3. Agostini B., Govindan V., Hofmann V. Morphological changes induced by phalloidin in rat liver // *Pathogenesis and mechanisms of liver cell necrosis* / ed. by D. Keppler. Dordrecht: Springer, 1975. P. 175-193.
4. Wieland T. Toxic peptides from mushroom fly agaric // *Int. J. Pept. Prot. otv.* 1983. Vol. 22, No. 3. P. 257-276.
5. Musselius S.G., Ryk A.A. Mushroom poisoning. M.: Demiurge-ART, 2002. (in Russian).
6. Morphological diagnostics. Preparation of material for histological examination and electron microscopy : guidelines // Ed. D.E. Korzhevsky. SPb.: SpetsLit, 2013. (in Russian).
7. Directive 2010/63/EC of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes. SPb.: Rus-LASA, 2012.
8. Modeling of intoxication by deprimating agents and assessment of the severity of the deprimating effect: MR FMBA of Russia 21.10–13. Moscow, 2013.
9. Khovpachev A.A., Liev P.S., Potapov P.K., Basharin V.A. The advantage of determining the indicator of the venoarterial gradient of partial pressure of carbon dioxide before the content lactate in the blood of rabbits (Experimental study) // *Collection of articles of the second All-Russian STC «State and prospects of development of science and technology in the direction of «Biotechnical systems and technologies»*. Vol. 2. Anapa, 2020. P. 147-154. (in Russian).
10. PiCCO2 © / PiCCO Maintenance Manual © software versions from 1.x to 3.1. [Text: electronic] – Feldkirchen: PULSE Med. Syst. SE., 2012. – 68 p. – Available at: <https://www.yumpu.com/en/document/read/25589922/technical-manual-service-picco2-in-English-pulse-medical-systems-se>. (Date of reference : 12.02.2023).
11. Ryabov G.A. Hypoxia of critical conditions. M.: Medicine, 1988. (in Russian).
12. Pospich, S. Structural effects and functional consequences of the binding of phalloidin and jasplakinolide with actin / *Structure*. 2020. Vol. 28, No. 4. P. 437-449.
13. Hernandez G., Bellomo R., Bakker J. Ten pitfalls of lactate clearance in sepsis // *Intensive care*. 2019. Volume 45. P. 82-85.