

## МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ДЕСИНХРОНИЗАЦИЯ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ (экспериментальное исследование)

Г. А. Ливанов, М. В. Александров, С. А. Васильев, Х. В. Батоцыренова,  
Б. В. Батоцыренов, А. Н. Лодягин, М. А. Луцык, А. В. Носов

Отдел клинической токсикологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского  
Института скорой помощи имени И. И. Джанелидзе;  
Научно-клинический отдел Института токсикологии Министерства здравоохранения  
и социального развития Российской Федерации;  
Кафедра военной токсикологии и медицинской защиты  
Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова

### Metabolic Desynchronization in Critical Conditions: Experimental Study

G. A. Livanov, M. V. Aleksandrov, S. A. Vasilyev, Kh. V. Batotsyrenova,  
B. V. Batotsyrenov, A. N. Lodyagin, M. A. Lutsyk, A. V. Nosov

Department of Clinical Toxicology, I. I. Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Care;  
Research Clinical Department, Institute of Toxicology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation;  
Department of Military Toxicology and Medical Protection, S. M. Kirov Military Medical Academy

**Цель работы.** Выполнить экспериментальное исследование влияния срока введения препаратов янтарной кислоты на функциональное состояние ЦНС и газообмен при моделировании метаболической терапии тяжелых отравлений этиловым спиртом. Исследование проведено на 74 самцах крысах-альбиносах массой 140–180 г. Острую интоксикацию тяжелой и крайне тяжелой степени моделировали внутрибрюшинным введением крысам 30% этанола. С целью моделирования экспериментальной терапии использовали препарат цитофлавин. Интенсивность газообмена оценивали по величине потребления кислорода, которое определяли закрытым камерным методом в аппарате Regnault (Германия). Спонтанная биоэлектрическая активность регистрировалась по стандартной методике в лобно-окципитальном отведении. Для оценки реактивности мозга использовали внешнюю болевую стимуляцию и ритмическую фотостимуляцию. Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартным методом. Разнонаправленная динамика изменений ЭЭГ при «раннем» и «позднем» введении сукцината не сопровождалась аналогичными изменениями газообмена: потребление кислорода как при «раннем», так и при «позднем» введении сукцината оставалось значительно ниже, чем у животных контрольной группы. При «позднем» введении сукцината животным, находящимся в смешанной (токсической и гипоксической) «коме» формировались так называемые «ножницы» между заметно возросшей электропродукцией и brutally сниженным уровнем метаболизма. Возможно, именно этот патофизиологический механизм и был основной более высокой летальности в группе с «поздним» введением сукцината. Полученные результаты и их анализ позволяют выдвинуть гипотезу о том, что сукцинат может вызвать метаболическую десинхронизацию, если активация метаболических процессов проходит в условиях глубокого угнетения тканевого дыхания. В этих случаях возникает тяжелое поражение тканей и, прежде всего, головного мозга. Это проявляется на ЭЭГ в виде всплесков эпилептиформной активности, предшествующих гибели животных. Следовательно, введению препаратов янтарной кислоты должна предшествовать реанимация, направленная на восстановление транспорта кислорода и его включение в энергетические процессы в тканях. В настоящее время, как показали экспериментальные и клинические исследования, таким препаратом является перфторан. Необходимо отметить, что чем активнее препарат метаболического действия, тем точнее надо соблюдать условия его применения у больных в критическом состоянии. **Ключевые слова:** реанимация, отравление, этанол, сукцинат, метаболизм.

**Objective.** To conduct an experimental study of the impact of the time of administration of succinic acid preparations on central nervous system (CNS) function and gas exchange while simulating metabolic therapy for severe poisoning by ethyl alcohol. The study was performed on 74 male albino rats weighing 140–180 g. Acute severe and very severe intoxication was simulated, by intraabdominally administering 30% ethanol to the rats. Cytoflavin was used to simulate experimental therapy. The rate of gas exchange was estimated by the oxygen uptake determined by the closed chamber method in a Regnault apparatus (Germany). Spontaneous bioelectrical activity was recorded in the frontooccipital lead by the routine procedure. External pain stimulation and rhythmical photostimulation were employed to evaluate cerebral responsiveness. Heterodirectional EEG changes in the «early» and «late» administration of succinate were not followed by the similar alterations of gas exchange: oxygen consumption in both the «early» and «late» administration of succinate remained significantly lower than in the control animals. With the late administration of succinate to the animals with mixed (toxic and hypoxic) coma, the so-called discrepancy between the noticeably increased energy production and brutally diminished metabolism occurred. It may be just the pathological mechanism that was the basis for higher mortality in the late succinate administration group. The findings and their analysis make it possible to advance a hypothesis that succinate may cause metabolic desynchronization if activation of metabolic processes takes place under severe tissue respiratory tissue depression. In these cases, there is a severe damage to tissue and chiefly the

brain. This manifests itself as EEG epileptiform activity splashes preceding the animals' death. Therefore, resuscitation aimed at restoring the transport of oxygen and its involvement in tissue energy processes should be followed by the administration of succinic acid preparations. The drug of this kind is now perfluorane, as demonstrated by experimental and clinical studies. It should be noted that the more potent a metabolic agent is, the more strictly the rules of its use should be observed. **Key words:** resuscitation, poisoning, ethanol, succinate, metabolism.

Опыт клинического применения препаратов янтарной кислоты для коррекции метаболических расстройств в клинике острых отравлений показывает неоднородность получаемых результатов. В большинстве случаев наблюдается несомненный, яркий терапевтический эффект [1, 2, 5], а в ряде случаев — эффект от применения сукцинат-содержащих рецептур не столь очевидно отличается от стандартной «базисной» терапии [6]. Анализ показывает, что при прочих равных условиях эффективность использования препаратов на основе янтарной кислоты может зависеть от сроков их введения от начала острого отравления [6].

### Материалы и методы

Исследование проведено на 74 самцах крыс-альбиносов массой 140—180 г. Животных содержали в стандартных условиях.

Острую интоксикацию тяжелой и крайне тяжелой степени моделировали внутрибрюшинным введением крысам 30% этанола в дозах от 40 мМ/кг (0,5 LD<sub>50</sub>) до 100 мМ/кг (1,5 LD<sub>50</sub>) при двухдневной продолжительности наблюдения.

С целью моделирования экспериментальной терапии использовали препарат цитофлавин (предприятие-изготовитель НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург). Препарат вводили внутрибрюшинно в виде водных растворов в дозе 770 мг/кг (5 мМоль/кг) по сукцинат-аниону.

Группа наблюдения была разделена на две подгруппы: в первой янтарная кислота вводилась через 30 минут после введения этанола, во второй — через 15 минут. В контрольной группе животным в те же сроки внутрибрюшинно вводился физиологический раствор в дозе 10 мл/кг массы. Сопоставимость экспериментальных групп обеспечивали рандомизацией выборки животных, использовавшихся в экспериментах.

Интенсивность газообмена у экспериментальных животных оценивали по величине потребления кислорода, которое определяли закрытым камерным методом в аппарате Regnault (Германия) [7, 8]. Продолжительность измерения составляла 3 мин. Результат выражали в мл кислорода на 1 кг массы тела в 1 мин [3, 4, 9].

Спонтанная биоэлектрическая активность регистрировалась по стандартной методике в лобно-окципитальном отведении. Исследование проводили через 10 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 3 ч, 5 ч и 24 ч после введения этанола. Оценивались средняя амплитуда и спектральный состав ЭЭГ. При быстром Фурье-преобразовании (FFT) выделялись 4 диапазона частот: дельта — 0—4 Гц, тета — 4—8 Гц, альфа — 8—12 Гц и бета — 12—25 Гц. Для оценки реактивности мозга использовали внешнюю болевую стимуляцию и ритмическую фотостимуляцию (вспышки света различной частоты интенсивностью 1,2 кДж). ЭЭГ регистрировали на компьютерном электроэнцефалографе «Мицар-ЭЭГ-2000» (Санкт-Петербург).

Значимость различий среднегрупповых значений каждого из изучавшихся показателей оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для несвязанных и связанных парных выборок. Значимость различий в частоте проявлений интоксикации оценивали с помощью метода Фишера. Для оценки математического сопряжения исследованных параметров использовали коэффициент корреляции Пирсона (r). Доверительные интер-

валы значений LD<sub>50</sub> этанола рассчитывали методом Миллера-Тейнера.

### Результаты и обсуждение

Респирометрическое определение интенсивности газообмена у интактных животных позволило установить значение скорости потребления кислорода целостным организмом на уровне 27,6±2,1 мл/мин·кг.

Введение этанола в широком диапазоне доз (от 40 до 100 мМ/кг) позволило выявить следующие закономерности динамики газообмена: 1) введение этанола в выбранных дозах вызывало у крыс дозозависимое выраженное (2—3-кратное) угнетение газообмена; 2) скорость (изменение во времени) угнетения газообмена от дозы практически не зависела (r=0,21) — значимое угнетение газообмена возникало в течение 12±5 мин, максимально глубокое угнетение регистрировалось в период 31±5 мин от момента введения этанола; 3) от дозы зависела продолжительность периода максимально глубокого угнетения газообмена (r=0,65). В диапазоне доз, близких к 0,875 LD<sub>50</sub> — 1,5 LD<sub>50</sub>, полное восстановление потребления кислорода до исходного уровня удавалось наблюдать к 18—24 часам с начала интоксикации.

Период максимально глубокого нарушения газообмена совпадал с общими проявлениями алкогольной интоксикации у крыс: боковое положение, мышечная атония, арефлексия, брадикардия. Глубина угнетения газообмена при моделировании алкогольной комы положительно коррелировала с вероятностью летального исхода интоксикации: (коэффициент корреляции Пирсона r=0,63). Прогностически неблагоприятным признаком явилось падение интенсивности потребления кислорода до 20% от исходного уровня: такое снижение газообмена сопровождалось гибелью животных.

Исходя из цели исследования экспериментальное лечение препаратом янтарной кислоты проводилось при введении этанола в дозе 1,5 LD<sub>50</sub>. Введение этанола в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> вызывало гибель 86±14% лабораторных животных контрольной группы в течение 6—11 ч (табл. 1).

На основе анализа динамики потребления кислорода при интоксикации этанолом введение препарата янтарной кислоты проводили в разные сроки: в первой группе через 30 мин после начала интоксикации (при максимальной депрессии газообмена), во второй — через 15 мин. Как представлено в табл. 1, при введении янтарной кислоты через 30 мин после введения этанола уже через

Влияние срока введения сукцината (5 ммоль/кг) на летальность лабораторных животных при интоксикации этанолом в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> ( $X \pm 2m_x$ )

Срок введения сукцината	Летальность		Время выхода из бокового положения, ч
	Уровень, %	Время наступления, ч	
Через 30 мин после введения этанола ( $n=12$ )	100–5*	4,5±1,3*	–
Через 15 мин после введения этанола ( $n=12$ )	34±16*	9,3±2,2	14,2±2,1*
Контрольная группа ( $n=14$ )	86±14	8,1±2,1	20,5±5,5

**Примечание.** \* – достоверные ( $p < 0,05$ ) различия по сравнению с аналогичным параметром в контрольной группе.

5,5 ч от начала интоксикации погибли все животные ( $n=12$ ). Летальность при введении сукцината через 15 мин от начала интоксикации составила 34±16%, выход из бокового положения регистрировался в срок 12–16 ч.

Таким образом, исходя из значений групповой летальности можно достаточно уверенно констатировать, что действие янтарной кислоты в дозе 5 ммоль/кг на течение тяжелой интоксикации этанолом в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> зависит от срока введения сукцината, т. е. от длительности интоксикации. Введение сукцината через 30 мин после введения этанола существенно утяжеляло течение отравления. Янтарная кислота, введенная через 15 мин, обеспечивала условное «снижение» дозы этанола в 2,7 раза.

Этот факт заставил искать различия в функциональном состоянии мозга, которые, вероятно, имеют место при начальном угнетении газообмена (через 15 мин от начала интоксикации) и при максимально глубоком угнетении метаболизма (через 30 мин).

Введение этанола в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> быстро вызывало глубокое угнетение ЦНС, что проявлялось стремительным подавлением постуральных рефлексов. В результате животные в течение 4,5±1,3 мин принимали боковое положение, утрачивали реакцию на внешнюю стимуляцию, сохранялись лишь «глубокие» рефлексы (например, роговичный). В условиях столь быстрой и глубокой депривации ЦНС для оценки функционального состояния головного мозга животных регистрировали спонтанную ЭЭГ.

Спонтанная ЭЭГ бодрствующей крысы при угасании ориентировочного рефлекса представляет собой регулярную активность преимущественно тета-диапазона частот амплитудой 30–50 мкВ, индекс тета-ритма достигает 80–90% (табл. 2), форма волн закругленная. Описанный тета-ритм у крыс считается аналогом альфа-ритма человека, регистрируемого в состоянии «спокойного бодрствования» при закрытых глазах.

При введении этанола в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> на ЭЭГ регистрировалось прогрессивное «замедление» активности. Как представлено в табл. 2, в интервале 3–15 мин после введения этанола ЭЭГ была сформирована дельта-активностью регулярной

частотой 1–2 Гц амплитудой 30–40 мкВ. Через 10–15 мин у большинства животных (80±10%) фоновая активность была представлена нерегулярными дельта-волнами средней амплитуды (20–30 мкВ). Характерной особенностью паттерна ЭЭГ, регистрируемого в период 25–35 мин, было наличие эпизодов сниженной практически до изолинии электрической активности. Такие ЭЭГ-эпизоды с амплитудой не выше 3–5 мкВ обозначаются как «эпизоды изоэлектрического молчания». В период около 30 мин после введения этанола паттерн ЭЭГ в 75±15% наблюдений представлял изоэлектрические эпизоды длительностью 10–15 сек, прерываемые комплексами из двух-пяти дельта-волн частотой 1–2 Гц амплитудой 40–80 мкВ. Волны были закругленными, близкими к правильной синусоидальной форме. В контрольной группе в период с 45 мин до 90 мин постепенно уменьшалась длительность изоэлектрических эпизодов, увеличивалась электропродукция, частота волн. В период с 30 мин до 2 ч после введения этанола на ЭЭГ регистрировалась нерегулярная дельта-активность частотой от 2 до 4 Гц. Обращала на себя внимания низкая амплитуда ЭЭГ: 10–20 мкВ. Внешняя стимуляция реакцию перестройки не вызывала. В дальнейший период (более 2 ч) и до исхода отравления динамика электрической активности мозга отражала необратимые изменения, вызванные смешанной (токсической и гипоксической) энцефалопатией.

Введение сукцината в дозе 5 ммоль/кг через 30 мин после начала отравления этанолом существенно меняло динамику ЭЭГ (табл. 2). В этот период, совпадавший с максимальным угнетением газообмена, ЭЭГ представляла собой устойчивые эпизоды изоэлектрического молчания, прерываемые редкими дельта-волнами. У крыс контрольной группы в течение последующих 30–60 мин (т. е. через 1–1,5 ч после начала интоксикации) активность, как правило, восстанавливалась до уровня дельта-ритма низкой или средней амплитуды. У крыс, которым на фоне изоэлектрического молчания ввели сукцинат, восстановления активности в аналогичные сроки не наблюдалось: через 30 мин после введения сукцината паттерн ЭЭГ по-прежнему представлял длительные изоэлектрические эпизоды, занимавшие до 75±12% общего времени

Таблица 2

Влияние срока введения сукцината (5 ммоль/кг) на среднюю амплитуду (мкВ) электрической активности головного мозга у экспериментальных животных с отравлением этанолом в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> (M±2m)

Срок введения сукцината	Исходное состояние	Средняя амплитуда ЭЭГ			
		Время после введения этанола, мин			
		15	30	60	120
Через 30 мин после введения этанола	52±8	34±5	5±5	5±5	0±5*
Через 15 мин после введения этанола	55±10	30±6	8±4	22±11*	34±12*
Контрольная группа	53±7	32±2	5±5	5±5	10±5

Примечание. \* – различия достоверны (p<0,05) по сравнению с аналогичными по времени данными контрольной группы. Внутри групп все различия по сравнению с исходным значением параметра достоверны (p<0,01).

Таблица 3

Влияние срока введения сукцината (5 ммоль/кг) на потребление кислорода (доля от исходного уровня, %) у экспериментальных животных с отравлением этанолом в дозе 1,5 LD<sub>50</sub> (M±2m)

Срок введения сукцината	Время после введения этанола, мин					
	15	30	60	180	360	1000 (16 ч)
	Потребление кислорода в % от исходного уровня					
Через 30 мин после введения этанола	53±12	37±5	33±4*	31±2*	26±8*	—
Через 15 мин после введения этанола	47±9	37±6	35±5*	39±4*#	47±2#	82±8
Контрольная группа	49±11	38±2	54±2	51±2	49±2	86±12

Примечание. \* – различия достоверны (p<0,05) по сравнению с аналогичными по времени данными контрольной группы; # – различия достоверны (p<0,05) при сравнении аналогичных параметров опытных групп.

регистрации. Однако на этом фоне стали формироваться ЭЭГ-феномены, которые могут быть отнесены к вариантам эпилептиформной активности. Во-первых, эпизоды молчания прерывались тета-волнами острой формы и очень высокой амплитуды (60–100 мкВ). Во-вторых, у некоторых животных регистрировались более грубые «всплески» эпилептиформной активности по типу комплексов «пик-волна», «острый пик». Корреляционный анализ выявил устойчивую прямую связь между сроком последующей гибели животного и выраженностью (в стенах) эпилептиформной активности: чем больше была эпилептиформная активность, тем раньше наступала гибель животных (коэффициент корреляции Пирсона  $r=0,73$ ).

Другой группе животных препарат янтарной кислоты был введен через 15 мин после введения этанола. В этот период у большинства животных паттерн активности представлял собой дельта-волны низкой частоты и средней амплитуды (табл. 2), а угнетение газообмена еще не достигало максимального уровня. Введение сукцината на этом фоне вызывало достаточно быстрое восстановление биоэлектрической активности. Через 1 ч после введения этанола (через 45 мин после введения сукцината) регистрировался регулярный ритм частотой 3–5 Гц со стабильной средней амплитудой (20–40 мкВ). Изоэлектрические эпизоды не формировались. Спектральный состав ЭЭГ составляли дельта- и тета-частоты в равных долях. В этот же период у животных контрольной группы до 90% спектра ЭЭГ занимали дельта-волны очень низкой частоты (до 1,0 Гц). В последующем у крыс с ранним введением сукцината доля тета-ритма прогрессивно возрастала, увеличивалась амплитуда ак-

тивности. ЭЭГ через 6 ч была представлена регулярным тета-ритмом частотой 5–6 Гц, амплитудой 40–70 мкВ. В этот период у большинства животных наблюдалась спонтанная немотивированная двигательная активность. Общее время выхода из бокового положения у выживших животных при раннем введении сукцината было значительно ниже, чем у животных контрольной группы (табл. 1).

Таким образом, «раннее» введение сукцината на фоне тяжелой интоксикации этанолом предотвращало полное угнетение механизмов электрогенеза и способствовало их восстановлению. Относительно «позднее» введение сукцината таким «протекторным» действием не обладало.

Для оценки влияния сукцината на параметры газообмена в исследуемых группах было выполнено исследование скорости потребления кислорода. Как представлено в табл. 3 у животных, не получавших сукцинат-содержащие препараты, с первого часа и до 3-х часов интоксикации регистрировались значимо более высокие показатели уровня потребления кислорода. Приходится констатировать, что «раннее» введение сукцината отнюдь не интенсифицировало метаболизм.

Анализ полученных данных позволил предположить, что в условиях выраженного угнетения метаболизма в тканях отравленных животных развиваются метаболические нарушения, препятствующие реализации лечебного действия сукцинатсодержащих рецептур.

Полученные результаты анализа биоэлектрической активности позволяют считать, что функциональное состояние мозга животных в течение прогрессивного угнетения газообмена, вызванного тяжелой интоксикацией этанолом, качественно

изменяется. В ранние сроки гипоксии мозг еще сохраняет нормальную реактивность на введение метаболических средств, что отражает сохранность механизмов электропродукции. Достижение максимального уровня угнетения газообмена сочетается, а, возможно, и обуславливает, необратимую «деструкцию» механизмов электрогенеза. Одной из фаз необратимого угнетения ЦНС выступает формирование извращенной реактивности мозга, что проявляется эпилептиформной активностью в ответ на введение сукцината. Исходя из динамики ЭЭГ, нами было сформулировано предположение, что введение препарата через 30 мин является поздним. В этом случае препарат вводится уже на фоне глубокого угнетения электрической активности. Было сделано предположение, что препарат необходимо вводить до формирования глубоких изменений ЭЭГ.

### Заключение

Интегральная оценка газообмена и динамики электрической активности головного мозга позволяют заключить следующее. Во-первых, разнонаправленная динамика изменений ЭЭГ при «раннем» и «позднем» введении сукцината не сопровождалась аналогичными изменениями газообмена: потребление кислорода как при «раннем», так и при «позднем» введении сукцината оставалось значимо ниже, чем у животных контрольной группы. Это позволяет заключить, что восстановление механизмов электрогенеза

при «раннем» введении сукцината не может быть полностью объяснено только исходя из предположения о нормализации метаболизма. Во-вторых, при «позднем» введении сукцината животным, находящимся в смешанной (токсической и гипоксической) «коме» формировались так называемые «ножницы» между заметно возросшей электропродукцией и грубально сниженным уровнем метаболизма. Возможно, именно этот патофизиологический механизм и был основой более высокой летальности в группе с «поздним» введением сукцината.

Полученные результаты и их анализ позволяют выдвинуть гипотезу о том, что сукцинат может вызвать метаболическую десинхронизацию, если активация метаболических процессов проходит в условиях глубокого угнетения тканевого дыхания. В этих случаях возникает тяжёлое поражение тканей и, прежде всего, головного мозга. Это проявляется на ЭЭГ в виде всплесков эпилептиформной активности, предшествующих гибели животных.

Следовательно, введению препаратов янтарной кислоты должна предшествовать реанимация, направленная на восстановление транспорта кислорода и его включение в энергетические процессы в тканях. В настоящее время, как показали экспериментальные и клинические исследования, таким препаратом является перфторан.

Необходимо отметить, что чем активнее препарат метаболического действия, тем точнее надо соблюдать условия его применения у больных в критическом состоянии.

### Литература

1. Бульон В. В., Зарубина И. В., Коваленко А. Л. и др. Церебропротективный эффект цитофлавина при закрытой черепно-мозговой травме. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2003; 66 (6): 56–58.
2. Бульон В. В., Хныченко Л. К., Сапронов Н. С. и др. Коррекция последствий постишемического реперфузионного повреждения головного мозга цитофлавином. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2000; 129 (2): 149–151.
3. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У. и др. Справочник биохимика. М: Мир; 1991.
4. Кларк Дж. М. Токсическое действие кислорода. В кн.: Бенедикт П. Б., Эллиот Д. Г. (ред.) Медицинские проблемы подводных погружений. М: Мир; 1988. 205–211.
5. Ливанов Г. А., Калмансон М. Л., Батоцыренов Б. В. и др. Фармакологическая коррекция последствий гипоксии у больных в токсической коме вследствие острых отравлений ядами нейротропного действия. Анестезиология и реаниматология. 2002; 2: 14–17.
6. Ливанов Г. А., Мороз В. В., Батоцыренов Б. В. и др. Пути фармакологической коррекции последствий гипоксии при критических состояниях у больных с острыми отравлениями. Анестезиология и реаниматология. 2003; 2: 51–54.
7. Ольянская Р. П., Исаакян Л. А. Методы исследования газового обмена у человека и животных. М: Медгиз; 1959.
8. Сумин С. А. Неотложные состояния. М: Фармацевтический мир; 2000.
9. Crabtree H. G. Observations on carbohydrate metabolism of tumors. Biochem. J. 1929; 23: 536–545.

Поступила 16.05.05