

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

РЕМАКСОЛ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ НАРУШЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ

М. М. Любишин, К. В. Сивак, Т. Н. Саватеева-Любимова¹

В экспериментах на крысах самцах изучено влияние ремаксола в составе комплексной антидотной терапии на течение острой интоксикации этиленгликолем, сопровождающейся развитием ацидоза и гипоксии, снижением функций мочевыделительной и иммунной систем. Показано, что ремаксол в остром периоде интоксикации способствует восстановлению функции органов и систем — мишеней токсического действия этиленгликоля. В основе терапевтического эффекта препарата лежит нормализация обменных процессов в клетке.

Ключевые слова: ремаксол, острое отравление этиленгликолем, антидотная терапия, ацидоз, гипоксия, иммунная система, мочевыделительная система

ВВЕДЕНИЕ

Поиск способов фармакологического воздействия на течение острой интоксикации спиртами является одной из актуальных задач токсикологии и фармакологии, так как частота отравлений данными соединениями постоянно увеличивается [5]. Среди отравлений суррогатами алкоголя одно из ведущих мест занимает этиленгликоль, что связано с широким использованием его в быту (автомобильные антиобледенители, антифризы) и промышленности (химический синтез, парфюмерная, фармацевтическая промышленность и др.) [2].

В эксперименте к настоящему моменту хорошо изучена фармакокинетика этиленгликоля, методы определения его концентрации в крови, подтверждена эффективность антидотной терапии этанолом и ингибиторами алкогольдегидрогеназы — АДГ (амид изовалериановой кислоты, 4-метилпиразол). Вместе с тем установлено, что перспективы совершенствования антидотной терапии острых отравлений в значительной мере исчерпаны [1]. Недостаточно изученными остаются отставленные последствия интоксикации, в частности, со стороны иммунной системы. Накопление кислых продуктов метаболизма этиленгликоля, вызывающих разобщение окисления и фосфорилирования (гликолевая и глиоксильная кислоты), приводит к развитию ацидоза и гипоксии, активации перекисного окисления липидов, увеличению содержания кетоновых тел. Все перечисленное может лежать в основе нарушения работы регуляторных систем организма. Основными органами-мишенями для токсического действия этиленгликоля являются ЦНС и почки. Наряду с этим показано повреждающее действие этиленгликоля на иммунную систему [4]. В частности, повышается концентрация аутоантигенных продуктов распада клеток ор-

ганизма (эритроцитов и др.) [3]. На фоне нарушения гомеостаза надзорная функция иммунной системы ослабевает, что создает предпосылки к развитию патологических процессов в отдаленные периоды интоксикации, трудно поддающиеся терапии. Последнее обуславливает необходимость своевременной фармакологической коррекции, направленной на профилактику формирования необратимых последствий отравления. Для этого целесообразно использовать инфузионные препараты, оказывающие комплексное действие на патологические процессы. Их применение приводит к увеличению объема жидкостных секторов организма и, следовательно, уменьшению концентрации токсиканта на всех уровнях — от клеточного до сосудистого; ограничению радикальных реакций, усилению элиминации токсиканта и продуктов его метаболизма из тканей в сосудистое русло с последующим выведением их из организма; связыванию ксенобиотиков в нетоксичные комплексы [6, 7].

Новый отечественный препарат ремаксол является метаболическим корректором, оказывающим комплексное цитопротекторное действие. В состав ремаксола входят: янтарная кислота, N-метилглюкамин, рибоксин, метионин, никотинамид. Янтарная кислота является продуктом 5 и субстратом 6 реакции цикла Кребса, следовательно, участвует в процессе клеточного дыхания, обеспечивает синтез АТФ, увеличивает утилизацию кислорода, обладает антиоксидантной активностью. Меглумин (N-метилглюкамин) является комплексообразователем и детоксицирующим средством. Рибоксин увеличивает скорость анаэробного гликолиза, является предшественником АТФ, активизирует активность ряда ферментов цикла Кребса, улучшает микроциркуляцию, а, следовательно, уменьшает зоны гипоксии и некроза. Метионин препятствует отложению в печени молекул нейтральных липидов, является кофактором реакций трансметилирования, необходимых для протекания синтетических процессов и восстановления глутатионзависимых ферментов. Никотинамид входит в состав коферментов НАД и НАДФ, ка-

¹ Лаборатория лекарственной токсикологии (зав. — Т. Н. Саватеева-Любимова) Федеральное государственное учреждение науки «Институт токсикологии» федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.

тализирующих окислительно-восстановительные процессы в живых клетках, включая клеточное дыхание.

Целью настоящего исследования было изучение эффективности ремаксоло (раствор для инфузий), примененного в составе принятой антидотной терапии, как средства профилактики развития отставленных нарушений, вызванных острым отравлением этиленгликолем.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 120 крысах самцах линии Вистар массой тела 200 – 220 г. Опыты были проведены в соответствии с правилами гуманного обращения с животными в биологических экспериментах [11]. Для моделирования острой интоксикации этиленгликоль вводили внутривенно через металлический атравматический зонд в дозе 6,6 г/кг (LD_{50}) однократно. Принятый антидот этанол экспериментальным животным вводили по схеме, обеспечивающей его концентрацию в крови не менее 25 ммоль/л: 2 мл/кг внутривенно в виде 30 % раствора через 1, 4, 6, 12, 18 ч после применения внутрь токсиканта [1]. Для коррекции ацидоза крысы получали 4% натрия гидрокарбонат внутривенно — 6 мл/кг 3 раза в первые сутки после интоксикации. Экспериментальные животные были разделены на 4 группы: интактные животные, первая опытная группа (контроль модели) — животные, получавшие вместо терапии физиологический раствор, вторая группа — животные, получавшие этанол и 4 % натрия гидрокарбонат по схеме — стандартная антидотная терапия (САТ), третья группа животных, помимо САТ, получала ремаксол, начиная со 2-х суток после введения этиленгликоля, внутривенно в дозе 6 мл/кг (соответствует терапевтической дозе для человека), 3 раза в сутки в течение 10 дней. Изучаемые показатели регистрировали в динамике у выживших животных

на 3, 7, 14, 21-е сутки, на 6 крысах в каждый срок во всех экспериментальных группах. Кровь забирали путем мгновенной декапитации крыс под легким наркозом [11].

Об эффективности лечения судили по уровню летальности, клинической картине интоксикации, степени развития ацидоза, функциональному состоянию мочевыделительной и иммунной систем. Погибших в течение первых суток животных подвергали вскрытию. Степень ацидоза оценивали по уровню глюкозы, лактата, 3-гидроксимасляной кислоты, активности лактатдегидрогеназы в крови с помощью наборов “Ольвекс диагностикум”, наборов реагентов фирмы “Randox” (Великобритания); функциональное состояние мочевыделительной системы — по уровню мочевины, креатинина и калия в крови с помощью наборов “Ольвекс диагностикум”; состояние иммунной системы — по фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов (неспецифическая резистентность) [10], индексу $ConA$ индуцированной миграции лейкоцитов (Т-клеточное звено иммунитета) [8], уровню циркулирующих иммунных комплексов малой молекулярной массы (гуморальное звено иммунитета) [9]. Результаты биохимических тестов регистрировали на спектрофотометре Synergy-2 фирмы “BioTek” (США) [8]. Почки погибших животных оценивали макроскопически, взвешивали на электронных весах GH-300 фирмы A&D (Япония).

Статистическую обработку проводили с помощью пакетов программ Excel и BIostat 2009. Различия между группами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента и считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента установлено, что летальность в группе отравленных животных, получивших САТ, состав-

Таблица 1. Влияние ремаксоло на ацидогенное действие этиленгликоля (ЭГ) в динамике ($M \pm m$)

Показатель	Сроки, сут	Экспериментальные группы			
		интактные	ЭГ	ЭГ + этанол	ЭГ + этанол + ремаксол
Глюкоза, ммоль/л	3	2,80 ± 0,13	1,98 ± 0,24*	4,27 ± 0,40* **	2,82 ± 0,21**#
	7	3,34 ± 0,22	1,93 ± 0,23*	2,26 ± 0,10*	2,54 ± 0,35
	14	3,15 ± 0,03	2,23 ± 0,14*	2,53 ± 0,14*	2,32 ± 0,37
	21	3,60 ± 0,46	3,58 ± 0,57	4,02 ± 0,18	2,25 ± 0,40**
Лактат, ммоль/л	3	2,52 ± 0,08	4,33 ± 0,21*	3,42 ± 0,20* **	2,98 ± 0,09* **
	7	2,45 ± 0,04	3,40 ± 0,18*	3,82 ± 0,38*	2,21 ± 0,11**#
	14	2,41 ± 0,07	2,75 ± 0,19	2,40 ± 0,23	2,73 ± 0,15
	21	2,30 ± 0,16	2,68 ± 0,34	3,37 ± 0,12*	2,73 ± 0,11#
3-ГМК, ммоль/л	3	0,07 ± 0,01	2,79 ± 0,21*	1,83 ± 0,22* **	1,84 ± 0,27*
	7	0,07 ± 0,004	0,42 ± 0,09*	0,45 ± 0,07*	0,38 ± 0,15*
	14	0,07 ± 0,01	0,37 ± 0,16	0,14 ± 0,05	0,32 ± 0,15
	21	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,14 ± 0,04
ЛДГ, МЕ/л	3	641 ± 62	2589 ± 84*	2156 ± 187*	2170 ± 240*
	7	518 ± 42	1453 ± 125*	1057 ± 254*	1426 ± 158*
	14	552 ± 47	1653 ± 150*	1792 ± 348*	1625 ± 161*
	21	646 ± 103	734 ± 144	1699 ± 70* **	1040 ± 28**

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 различия достоверны по сравнению: * — с интактной группой ($p < 0,05$); ** — с контролем (ЭГ) ($p < 0,05$); # — с группой, получившей этанол ($p < 0,05$).

вила 10 %, в отличие от 40 % в первой группе. У погибших животных при вскрытии регистрировали характерные патоморфологические признаки острого отравления этиленгликолем: дилатацию камер сердца (желудочков), полнокровие печени, парез и эрозии желудка, изменение цвета, увеличение массового коэффициента и линейных размеров почек. В экспериментальной группе, получавшей помимо САТ ремаксол по указанной схеме, гибели животных не наблюдалось. Показатели, характеризующие наличие ацидоза, гипоксии и энергодефицита, представлены в табл. 1. Анализ полученных данных показал, что применение САТ не вызвало существенного позитивного влияния на течение патологического процесса в динамике. Как тенденцию можно отметить только некоторое снижение повышенного под действием токсического агента уровня лактата, 3-гидроксимасляной кислоты и активности ЛДГ при регистрации в остром периоде отравления. При дальнейшем наблюдении в динамике у выживших животных из второй опытной группы наблюдали нарастание ацидоза, гипоксии и энергодефицита, что связывали с накоплением кислых продуктов биотрансформации этиленгликоля (ЭГ) и этанола. При этом тяжесть патологии усугубляется увеличением содержания свободных протонов на фоне возникающего дефицита их акцепторов (НАД⁺, НАДФ⁺) [2]. В свою очередь, ацидоз вызывает блокаду тканевого дыхания, усиливающуюся метаболитами ЭГ, разобщающими окисление и фосфорилирование, а в результате возникающей гипоксии происходит накопление недоокисленных продуктов обмена, приводящих к увеличению степени ацидоза. Установлено, что ацидоз и гипоксия, развивающиеся у отравленных животных, взаимно потенцируя друг друга, образуют “порочный круг”, не только несмотря на применение антидотной терапии, но и в определенной степени благодаря ей. Применение ремаксоло в составе САТ способствовало стабилизации уровня глюкозы и лактата в течение всего периода наблюдения, не оказывая существенного влияния на уровень 3-гидроксимасляной кислоты. Повышенный уровень активности ЛДГ, при этом, был достоверно снижен к концу 3 недели наблюдения. Таким обра-

зом, ремаксол оказывал антигипоксическое действие, усиливал интенсификацию аэробных процессов, обеспечивая энергоемкими метаболитами (сукцинатом) пораженные ткани, и в значительной степени нивелировал признаки ацидоза и гипоксии, регистрируемые в течение всего периода наблюдения.

Результаты изучения некоторых показателей, характеризующих функциональную активность мочевыделительной системы, как одной из основных мишеней для действия изучаемого токсиканта, представлены в табл. 2. Концентрация мочевины в крови отравленных животных, подвергнутых декапитации в агональном состоянии, превышала фоновые значения в 4 раза, что свидетельствовало о развитии у них острой почечной недостаточности (данные не представлены). В то же время, в течение первых 7 суток после острого отравления как у выживших животных из первой группы, так и из 2-й группы негативных последствий интоксикации для мочевыделительной системы зарегистрировано не было, о чем свидетельствуют нормальные концентрации мочевины, креатинина и калия в крови животных. Однако в дальнейшем при регистрации на 14-е сутки у животных было отмечено повышение уровня креатинина. К 21 суткам интоксикации повышались также концентрации мочевины и калия, что свидетельствовало о нарушении фильтрационной функции почек. В негативном контроле динамика этих изменений была аналогичной таковой в группе животных, получивших САТ, что свидетельствует об отсутствии протекторного действия антидотной терапии на мочевыделительную систему выживших животных. В то же время применение ремаксоло у животных практически полностью предотвращало развитие нарушений со стороны фильтрационной способности почек в отдаленный период после острого воздействия яда.

Показано достоверное снижение уровня неспецифической резистентности организма у выживших животных из первой и второй опытных групп. Отмечено, что неспецифическая резистентность была значимо снижена уже в остром периоде интоксикации (на 7-й день после отравления) и резко падала к 14-му и 21-му дням наблю-

Таблица 2. Влияние ремаксоло на некоторые функциональные показатели мочевыделительной системы крыс в динамике ($M \pm m$)

Показатель	Сроки, сут	Экспериментальные группы			
		интактные	ЭГ	ЭГ + этанол	ЭГ + этанол + ремаксол
Мочевина, ммоль/л	3	4,60 ± 0,24	5,05 ± 0,24	4,78 ± 0,31	4,94 ± 0,32
	7	4,37 ± 0,37	5,18 ± 0,44	4,51 ± 0,28	4,69 ± 0,42
	14	4,80 ± 0,23	5,35 ± 0,32	5,86 ± 0,81	5,82 ± 0,34
	21	3,98 ± 0,31	5,72 ± 0,06*	5,90 ± 0,24*	4,63 ± 0,35**#
Креатинин, мкмоль/л	3	81,6 ± 4,8	80,3 ± 6,9	77,4 ± 3,9	75,8 ± 3,4
	7	83 ± 3,4	76,8 ± 7,7	74,3 ± 7,5	92,4 ± 9,2
	14	77,6 ± 1,8	138,2 ± 7,3*	109,2 ± 2,7**	119,6 ± 8,2*
	21	67,6 ± 6,5	137,7 ± 25,0*	168,3 ± 26,6*	53,9 ± 3,6**#
Калий, ммоль/л	3	4,08 ± 0,06	5,76 ± 0,33*	5,22 ± 0,63	4,83 ± 0,24
	7	4,38 ± 0,36	3,90 ± 0,55	4,00 ± 0,68	3,79 ± 0,48
	14	4,45 ± 0,20	3,86 ± 0,40	5,33 ± 0,66	5,01 ± 0,36
	21	4,09 ± 0,10	5,61 ± 0,07*	6,37 ± 0,19*	4,45 ± 0,46**#

Таблица 3. Влияние ремаксолола на некоторые иммунологические показатели в разные сроки после интоксикации этиленгликолем ($M \pm m$)

Показатель	Сроки, сут	Группы животных			
		интактные	ЭГ	ЭГ + этанол	ЭГ + этанол + ремаксол
Фагоцитоз	3	0,242 ± 0,015	0,223 ± 0,01	0,234 ± 0,010	0,229 ± 0,012
	7	0,25 ± 0,01	0,183 ± 0,009*	0,180 ± 0,013*	0,189 ± 0,016*
	14	0,234 ± 0,03	0,017 ± 0,005*	0,014 ± 0,004*	0,03 ± 0,010*
	21	0,233 ± 0,034	0,037 ± 0,013*	0,060 ± 0,014*	0,26 ± 0,045***#
РТМЛ индекс стим./спонт.	3	0,44 ± 0,05	0,68 ± 0,05*	0,71 ± 0,05*	0,69 ± 0,04*
	7	0,46 ± 0,04	0,73 ± 0,06*	1,02 ± 0,08*	0,78 ± 0,09*
	14	0,42 ± 0,04	0,91 ± 0,06*	1,03 ± 0,14*	0,54 ± 0,07***#
	21	0,43 ± 0,04	1,08 ± 0,05*	0,96 ± 0,04*	0,58 ± 0,05***#
ЦИК малой молекуляр- ной массы, у. е.	3	76,3 ± 14,8	97,4 ± 18,5	60,7 ± 8,3	65,3 ± 7,13
	7	68,5 ± 8,5	60,8 ± 10,2	38,8 ± 13,6	56,3 ± 9,9
	14	57,3 ± 22,2	156,3 ± 18,4*	32,3 ± 15,9**	74,5 ± 11,8**
	21	59,5 ± 3,5	119,3 ± 5,2*	149,0 ± 15,1*	87 ± 28,3

дения. В группе животных, получавших помимо САТ ремаксол, существенное снижение фагоцитарной активности было отмечено только на 14-й день после введения ЭГ. Аналогичная картина наблюдалась при изучении функциональной активности Т-лимфоцитов. Патологические изменения гуморального звена иммунитета, оцененные по уровню циркулирующих иммунных комплексов малой молекулярной массы, как носителей наибольшей токсичности, напротив, были отмечены в более отдаленные сроки — на 14-й и 21-й день наблюдения. У животных, получавших ремаксол, существенные изменения функциональной активности гуморального звена иммунитета отсутствовали (табл. 3).

ВЫВОДЫ

1. Применение стандартной антидотной терапии при остром отравлении этиленгликолем не предотвращает развития отсроченных последствий интоксикации, характеризующихся нарушением функций иммунной и мочевыделительной систем.

2. Введение ремаксолола в схему стандартной антидотной терапии оказывает протекторное действие в отношении поздно развивающихся нарушений.

3. Защитное действие ремаксолола реализуется путем коррекции ацидоза, гипоксии и энергодефицита, что обусловлено механизмами действия входящих в его состав компонентов.

REMAXOL IN PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF LONG-TERM DISORDERS CAUSED BY ACUTE ETHYLENE GLYCOL POISONING

M. M. Lyubishin, K. V. Sivak, and T. N. Savateeva-Lyubimova

Institute of Toxicology, Ministry of Public Health of the, Russian Federation, ul. Bekhtereva 1, St. Petersburg, 192019, Russia

The effect of remaxol therapy as a part of the complex acute treatment of ethylene glycol poisoning has been experimentally studied on rats. Special attention was paid to the development of acidosis and hypoxia and a decrease in the functional activity of the urinary and immune systems. It was shown that remaxol is capable of restoring the functional activity of organs and systems susceptible to the toxic effect of ethylene glycol. It is suggested that the therapeutic efficiency of remaxol is based on the normalization of metabolic processes in the cell.

Key words: Remaxol, acute ethylene glycol poisoning, antidote treatment, acidosis, hypoxia, immune system, urinary system

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Ю. Бонитенко, Ю. Ю. Бонитенко, *Medline.ru*, **10**(17), 442 – 453 (2009).
2. Ю. Ю. Бонитенко, Г. А. Ливанов, Е. Ю. Бонитенко и др., *Острые отравления этанолом и его суррогатами*, Ю. Ю. Бонитенко (ред.) ЭЛБИ-СПБ, Санкт-Петербург (2005).
3. О. В. Колбасеева, Л. С. Васильева, *Сиб. мед. журн.*, № 5, 37 – 39 (2009).
4. В. Г. Лим, *Автореф. дис. ... д-ра мед. наук*, Саратов (2006).
5. Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова, *Острые отравления руководства для врачей*, Медицина, Москва (2000).
6. А. В. Саватеев, Т. Н. Саватеева-Любимова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **73**(12) 44 – 49 (2010).
7. К. В. Сивак, Т. Н. Саватеева-Любимова, А. Ю. Петров, А. Л. Коваленко, *Экспер. и клин. фармакология*, **73**(12), 39 – 43 (2010).
8. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, *Современные методы в биохимии*, Медицина, Москва (1977).
9. Фримель Г., Тарасов А. П., *Иммунологические методы*, Г. Фримель (ред.), Медицина, Москва (1987).
10. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Хабриев Р. Ю. (ред.), Медицина, Москва (2005).
11. Directive 2010 / 63 / EU of the European parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. L. 276. 33 – 79 (2010).

Поступила 24.05.11