

УДК 615.917, 615.279, 616.612-002, 616-092.9
<https://doi.org/10.17816/MAJ17632>

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СОСТОЯНИЯ У КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ

К.В. Сивак¹, М.М. Любишин¹, Е.Ю. Калинина^{1,2}

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург;

² ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Сивак К.В., Любишин М.М., Калинина Е.Ю. Коррекция нарушений кислотно-основного состояния у крыс при остром отравлении этиленгликолем // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 4. – С. 75–86. <https://doi.org/10.17816/MAJ17632>

Поступила: 05.11.2019

Одобрена: 25.11.2019

Принята: 27.11.2019

Целью исследования настоящей работы являлось изучение в эксперименте эффективности стандартной антидотной терапии и терапии димефосфоном в отношении метаболического ацидоза с высокой анионной разницей при отравлении крыс этиленгликолем. В задачи исследования входили моделирование острого отравления этиленгликолем у крыс, проведение экспериментальной терапии антидотом этанолом в сочетании с натрием гидрокарбонатом и терапии димефосфоном, сравнение эффективности препаратов в отношении показателей нарушения кислотно-основного состояния и функции почек.

Материалы и методы. Этиленгликоль вводили крысам-самцам линии Вистар массой тела 190–210 г внутрижелудочно в дозе 6 мл/кг однократно через атравматический зонд. Животные были разделены на группы по 6 особей в каждой: интактные (негативный контроль), отравление этиленгликолем (позитивный контроль), этиленгликоль + стандартная антидотная терапия, этиленгликоль + терапия димефосфоном. Экспериментальную терапию проводили в течение первых 24 ч с помощью стандартной антидотной терапии при введении этанола (2 мл/кг внутривентриально в виде 30 % раствора через 1, 4, 6, 12, 18 ч) и натрия гидрокарбоната (6 мл/кг в виде 4 % раствора 3 раза в первые сутки), а также димефосфона (150 мг/кг внутривентриально три раза в первые сутки). Суточную мочу собирали на 3-и сутки после отравления в обменных клетках. Измеряли концентрацию креатинина в пробах мочи и сыворотки крови, рассчитывали клиренс креатинина. В образцах венозной крови через 24 ч терапии определяли величину рН, уровень натрия, калия, кальция, магния, хлоридов, гидрокарбонатов, лактата, бета-3-гидроксибутирата, альбумина, мочевины и креатинина (измеренные параметры). Вычисляли АГ (анионную разницу), Δ рН, Δ АГ, Δ НСО₃, Δ АГ/ Δ НСО₃ и Δ Гар (расчетные параметры). Для погибших животных определяли причину смерти. Данные обрабатывали с использованием программы GraphPad Prism 6.0 (США).

Результаты. Острое отравление крыс этиленгликолем приводит к развитию токсической энцефалопатии и нефропатии, метаболического ацидоза с высокой анионной разницей, обусловленной наличием метаболитов, а также лактат-кетоацидоза вследствие торможения функций центральной нервной системы. Все животные, получавшие этиленгликоль в дозе 12 мл/кг, погибли на 3-и сутки. В сочетании с гипермагниемией метаболический ацидоз оказывал кардиодепрессивный эффект, что наряду с прямыми нефротоксическим и нейротоксическим воздействиями способствовало развитию смешанного варианта танатогенеза и смерти. Смерть наступила от токсической энцефалопатии и нефропатии, вызванных прямым нефротоксическим и нейротоксическим действием этиленгликоля и его метаболитов. При отравлении этиленгликолем в дозе 6 мл/кг экспериментальная терапия этанолом в сочетании с гидрокарбонатом натрия ограничивала ацидотический сдвиг рН крови, лактат-ацидоз и кетоацидоз, повышение уровня мочевины, но не влияла на уровень гидрокарбонатов ($p = 0,048$), креатинина и его клиренс ($p = 0,037$), анионную разницу ($p = 0,033$). Терапия димефосфоном в дозе 450 мг/кг в сутки предотвращала снижение клиренса креатинина и уровня гидрокарбонатов в крови, ограничивала увеличение активности лактатдегидрогеназы, оказывала более выраженное действие в отношении анионной разницы и Δ АГ ($p = 0,042$), но не влияла на развитие гипокальциемии ($p = 0,0076$) и гипоальбуминемии ($p = 0,021$).

Заключение. Острое отравление этиленгликолем приводит к развитию смешанного варианта танатогенеза с поражением центральной нервной и мочевыделительной систем, а также сердца. Вскрытие и гистопатологическое исследование подтвердили причину гибели животных. По сравнению с эффектами стандартной антидотной терапии препарат димефосфон в большей степени способствовал коррекции метаболического ацидоза (как измеренных, так и расчетных его маркеров, $p < 0,05$). Терапия димефосфоном предотвращала

Список сокращений

ДМФ — димефосфон; КОС — кислотно-основное состояние; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; ОПП — острое повреждение почек; САТ — стандартная антидотная терапия; ЭГ — этиленгликоль; АГ — анионная разница (anion gap); D-3-NBA — D-3-гидроксимасляная кислота (D-3-гидроксибутират); Δ АГ — разность в величине анионной разницы; Δ АГ/ Δ НСО₃ — индекс отношения анионной разницы; Δ Гар — разность между изменением анионной разницы и изменением гидрокарбонатов; ННСО₃ — разница в уровне гидрокарбонатов крови; Δ рН — разница в величине водородного показателя крови; ISE — ион-селективные электроды; рН — водородный показатель.

снижение клиренса креатинина. Сравнительный анализ двух методов коррекции ацидоза у крыс при остром отравлении этиленгликолем показал, что димефосфон оказывал более выраженное действие в отношении маркеров метаболического ацидоза и почечной недостаточности.

Ключевые слова: этиленгликоль; антидотная терапия; димефосфон; крысы; токсичность; метаболический ацидоз; анионная разница.

CORRECTION OF ACID BASE DISORDERS IN RATS WITH ACUTE ETHYLENE GLYCOL POISONING

K.V. Sivak¹, M.M. Lyubishin¹, E.Yu. Kalinina^{1,2}

¹ Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia;

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Sivak KV, Lyubishin MM, Kalinina EYu. Correction of acid base disorders in rats with acute ethylene glycol poisoning. *Medical Academic Journal*. 2019;19(4):75-86. <https://doi.org/10.17816/MAJ17632>

Received: November 5, 2019

Revised: November 25, 2019

Accepted: November 27, 2019

The aim of the article. The aim of this study was to evaluation of the effectiveness of standard antidote therapy and dimephosphon administration in rats with acute ethylene glycol poisoning. The tasks of the study included modeling acute ethylene glycol poisoning in rats, conducting experimental therapy with ethanol antidote in combination with sodium bicarbonate and dimephosphon therapy, comparing the effectiveness of drugs in relation to indicators of acid-base state impairment and renal function.

Materials and methods. Ethylene glycol (EG) was administered *per os* to Wistar male rats (190–210 g b.w.) at a single dose of 6 mL/kg b.w. through an atraumatic gastric tube. The animals were divided into 4 groups of 6 individuals each: intact (negative control), EG poisoning (positive control), EG + standard antidote therapy, EG + dimephosphon therapy. Experimental therapy was carried out for first 24 hours using standard antidote therapy: ethanol (30% solution 2 mL/kg b.w. *i.p.* after 1, 4, 6, 12, 18 hours) and sodium bicarbonate (4 % solution 6 mL/kg b.w. *i.p.* 3 times on the first day), as well as administration of dimephosphon (150 mg/kg *i.p.* 3 times on the first day, 450 mg/kg b.w. per day). Daily urine on day 3 after poisoning was collected in metabolic cages. Creatinine concentration in urine and blood serum samples were measured, and creatinine clearance was calculated. After 24 hours of therapy, the pH, level of sodium, potassium, calcium, magnesium, chlorides, bicarbonates, lactate, D-3-hydroxybutyrate, albumin, urea and creatinine (measured parameters) were determined in venous blood samples. Anion gap, Δ pH, Δ AG, Δ HCO₃, Δ AG/ Δ HCO₃ and Δ Gap were calculated. The mechanism of death was determined for the dead animals. Data processing was performed using GraphPad Prism 6.0.

Results. Acute poisoning of rats with ethylene glycol leads to the development of toxic encephalopathy and nephropathy, acid-base abnormalities, high anion gap metabolic acidosis due to the presence of metabolites, as well as lactate-ketoacidosis due to depression of the central nervous system. 100% of the EG-treated (12 mL/kg b.w.) animals died within 3 days. Metabolic acidosis in combination with hypermagnesemia had provided a cardiodepressive effect, which with direct nephrotoxic and neurotoxic effects contributed to the development of a mixed variant of thanatogenesis and death. Death comes from toxic encephalopathy and nephropathy, high anion gap metabolic acidosis caused by direct nephrotoxic and neurotoxic effects of EG and its metabolites. The standard antidote therapy with ethanol in combination with sodium bicarbonate prevented a pH shift, lactic acidosis and ketoacidosis, an increase in urea, but did not affect the level of bicarbonate ($p = 0,048$), creatinine and its clearance ($p = 0,037$) and the anion gap ($p = 0,033$). The dimephosphon therapy prevented a decrease in creatinine clearance and blood bicarbonate level, limited the increase in lactate dehydrogenase activity, had a more pronounced effect on the AG and Δ AG ($p = 0,042$), but did not affect the hypocalcemia ($p = 0,0076$) and hypoalbuminemia ($p = 0,021$).

Conclusion. Acute ethylene glycol poisoning leads to the development of a mixed variant of thanatogenesis with damage to the central nervous and urinary systems, as well as the heart. Autopsy and histopathology confirmed the cause of animal death. In the model at a dose of 6 mL/kg of EG the dimephosphon therapy was more conducive to the correction of the main markers of high anion gap metabolic acidosis (HAGMA) than standard antidote therapy (both measured and calculated, $p < 0,05$). The dimephosphon therapy prevented a decrease in creatinine clearance. A comparative analysis of two methods for the correction of high anion gap metabolic acidosis in rats in acute poisoning with ethylene glycol showed that dimephosphon therapy vs. standard antidote therapy had a stronger effect on markers of metabolic acidosis and renal impairment.

Keywords: ethylene glycol; antidote therapy; dimephosphon; rats; toxicity; metabolic acidosis; anion gap.

Введение

Этиленгликоль (ЭГ), будучи нейро- и нефротоксином, метаболизируется в процессе биотрансформации до гликолевой кислоты, которая медленно выводится из организма и приводит к выраженному ацидозу [1–3]. Клетки почечных канальцев гибнут по меха-

низму одного из вариантов некроза — онкозиса (осмотического разрыва) [4, 5]. Высокие значения анионной разницы при отравлении ЭГ являются значимым фактором риска смерти пациентов [6, 7]. При отравлении ЭГ, несмотря на опасность перегрузки объема цир-

кулирующей крови, применяют активную инфузионную терапию с помощью антидота фомепизола, этанола и корректора метаболического ацидоза — натрия гидрокарбоната [8, 9]. Опасность данного терапевтического подхода заключается в том, что если период перехода в олигоанурическую фазу острого повреждения почек (ОПП) сокращается, то инфузируемые растворы могут способствовать гипернатриемии, перегрузке объема циркулирующей крови и развитию отека легких и головного мозга. Перегрузка жидкостью может быть результатом чрезмерного введения жидкости или олигурии или их комбинации. Введение жидкости, а не низкое выделение мочи было независимо связано с прогрессированием от ОПП I стадии до ОПП III стадии. Одна из ключевых проблем заключается в том, что эффекты перегрузки объемом и эффекты ОПП похожи и оба приводят к полиорганной недостаточности [10, 11]. С другой стороны, очевидно, что при подобных отравлениях развивается эксикоз и в раннюю фазу необходимо вводить кристаллоиды, препараты с антигипоксическими и антиоксидантными свойствами для обеспечения защиты тканей от токсического действия метаболитов ЭГ [12–14]. Среди лекарственных препаратов, влияющих на кислотно-основное состояние (КОС), наряду с натрия гидрокарбонатом назначают диметилксобутилфосфонилдиметилат, или димефосфон (ДМФ), обладающий антиацидотической, мембраностабилизирующей, противовоспалительной и антиоксидантной активностями. Однако его эффективность при отравлении ЭГ ранее не изучали. Анализ фармакодинамических свойств ДМФ показал, что он оказывает кардиопротективное и нейропротективное действие, благодаря чему может позитивно влиять на вызванные отравлением нарушения КОС и функции почек у крыс.

Целью настоящей работы являлось изучение в эксперименте эффективности стандартной антидотной терапии (САТ) и ДМФ в отношении острого метаболического ацидоза с высокой анионной разницей (НАГМА) при отравлении крыс ЭГ. В задачи исследования входило моделирование острого отравления ЭГ у крыс, проведение экспериментальной терапии антидотом этанолом в сочетании с натрия гидрокарбонатом и терапии ДМФ, сравнение эффективности препаратов в отношении показателей нарушения КОС и функции почек.

Материалы и методы исследования

Животные и моделирование патологии. Эксперименты на животных выполняли в соответствии с требованиями этического обра-

щения с лабораторными животными [15] и протоколом № НИР-102-NT/14 (10.06.2014) лаборатории безопасности лекарственных средств в ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России. В качестве яда использовали ЭГ (АО «ЛенРеактив», ТУ 2632-143-444493179-11) с массовой долей этиленгликоля не менее 99,7 %, диэтиленгликоля — не более 0,1 %. Для выбора дозы крысам внутрижелудочно вводили ЭГ в дозах 3, 6 и 12 мл/кг (по две особи на каждую дозу) и регистрировали летальность. Крысы-самцы линии Вистар массой тела 190–210 г, полученные из питомника ПЛЖ «Рапполово», были разделены по 6 особей каждого пола на группы: интактные (негативный контроль), отравление ЭГ (позитивный контроль), ЭГ + САТ, ЭГ + ДМФ. Для оценки эффективности САТ и ДМФ этиленгликоль вводили крысам внутрижелудочно в дозе 6 мл/кг однократно через атравматический зонд.

Исследуемые препараты и схема лечения. Стандартная антидотная терапия предусматривала введение этанола и натрия гидрокарбоната. В качестве конкурентного ингибитора алкогольдегидрогеназы животным вводили этанол в виде 30 % раствора в дозе 2 мл/кг внутрибрюшинно через 1, 4, 6, 12, 18 ч после отравления по схеме, обеспечивающей его концентрацию в крови не менее 25 ммоль/л. Ацидоз корректировали введением 4 % раствора натрия гидрокарбоната в дозе 6 мл/кг три раза внутрибрюшинно в первые сутки после отравления [9]. Препарат ДМФ, 15 % раствор (ОАО «Татхимфармпрепараты», с.30712), разбавляли стерильным апиогенным изотоническим раствором натрия хлорида в четыре раза и вводили в дозе 150 мг/кг внутрибрюшинно три раза с интервалом 3 ч в первые сутки после отравления (450 мг/кг в сутки в объеме 0,40 мл/100 г массы тела).

Анализируемые показатели. Поскольку задачи эксперимента не предусматривали оценку газов крови и артериовенозную разность показателей, в опыте исследовали венозную кровь. В образцах венозной крови через 24 ч терапии определяли величину pH (ISE), уровень натрия (ISE), калия (ISE), кальция (ISE), магния (Thermo Scientific), хлоридов (ISE), гидрокарбонатов (DiaSys), лактата (DiaSys), D-3-гидроксипропаната (Randox), альбумина (Fluitest Analyticon), мочевины (Fluitest Analyticon) и креатинина (Вектор Бест) на автоматическом биохимическом анализаторе KeyLab (BPC+Biosed s.r.l., Италия) и анализаторе электролитов E-Lyte 5 (HTC, США) (измеренные параметры). Концентрационный индекс по креатинину рассчитывали как отношение уров-

ния креатинина в моче к таковому в сыворотке крови. Вычисляли AG (анионную разницу), ΔpH , ΔAG , ΔHCO_3 , $\Delta AG/\Delta HCO_3$, ΔGap (расчетные параметры). Вычисления проводили по уравнениям, адаптированным для животных: $AG = Na - (Cl + HCO_3)$, $\Delta pH = 7,4 - pH$, $\Delta AG = AG - 10$, $\Delta HCO_3 = 30 - HCO_3$, $\Delta Gap = \Delta AG - \Delta HCO_3$ [16–19], а также с помощью онлайн-сервиса <https://www.merckmanuals.com/medical-calculators/AnionGapDeltaGradient.htm>. Суточную мочу собирали со 2-х на 3-и сутки после отравления в обменных клетках Tecniplast metabolic cages (Tecniplast Gazzada, Италия). Измеряли концентрацию креатинина в пробах мочи (методом Яффе) на анализаторе UriSCAN-БК (ООО «Эйлитон», Россия), рассчитывали клиренс креатинина.

Патоморфологическое исследование. Определяли причину смерти погибших животных. Для патоморфологического исследования проводили вскрытие с выделением головного мозга, сердца, легких, печени и почек, которые кассетировали и фиксировали в 15 % нейтральном забуференном растворе формалина не менее 48 ч. Затем осуществляли стандартную проводку и заливку в парафиновые блоки, получали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином, крезилловым фиолетовым по Ниссию, пикро-Маллори по Лендруму, по методике Ли (ГОФП) [20]. Гистологические препараты исследовали под светооптическим микроскопом Leica DM1000 с поляризационными фильтрами POLAR при участии двух независимых патологов. Микрофотографии получали с помощью камеры и программы ADF Image Capture (версия x64, 4.7.14011).

Статистическая обработка данных. Данные обрабатывали с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism 6.0 (США). Для регистрируемых количественных переменных рассчитывали параметры описательной статистики. Данные представлены в виде среднего (Mean) и его ошибки ($\pm SEM$). Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса и Данна для множественных сравнений и считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для подбора оптимальной дозы ЭГ использовали три дозы, каждую из которых увеличивали в два раза. Введение ЭГ крысам в дозе 3 мл/кг не приводило к существенной интоксикации, в клинической картине преобладали неврологические нарушения только в первые сутки наблюдения в виде атаксии, тахипноэ,

чередующихся эпизодов увеличения двигательной активности и бокового положения при наблюдении в клетке. На 2-е и 3-и сутки поведение и внешнее состояние животных не отличались от нормального. В дозе 6 и 12 мл/кг ЭГ вызывал более выраженные неврологические нарушения в первые сутки наблюдения в виде атаксии и увеличения двигательной активности, которые сменялись через 2 ч боковым положением 1 из 2 особей в группе крыс, получавших ЭГ в дозе 6 мл/кг, и 2 из 2 особей в группе крыс, получавших ЭГ в дозе 12 мл/кг. У отравленных животных снижались двигательная активность, потребление корма и воды. На 3-и сутки, не приходя в сознание, обе крысы из группы ЭГ 12 мл/кг погибли.

Вскрытие и патоморфологическое исследование внутренних органов крыс, погибших при отработке дозы ЭГ, позволили установить следующие патологические изменения. В сердце отмечали мелкие темно-красные субэндокардиальные кровоизлияния без видимого распространения на миокард. Подплеврально в легких выявлены очаговые геморрагии среднего и мелкого размеров. На разрезе печень бледно-коричневого цвета с красными полосками, с поверхности разреза вытекала жидкая кровь. Почки значительно увеличены в размере, бледно-коричневого цвета, капсула снялась легко. На разрезе почек граница между слоями стертая, отмечена выраженная гиперемия слоев. Головной мозг отечен, борозды сглажены, сосуды оболочек головного мозга резко расширены, в стволовой части и мозжечке выявлены точечные кровоизлияния. Очаговых изменений в головном мозге не наблюдали.

Гистологические изменения внутренних органов погибших крыс представлены на рис. 1.

В почках погибших крыс выявлены острые гемодинамические расстройства в виде резкого полнокровия сосудистого русла с развитием стаза эритроцитов как в корковом, так и в мозговом слоях. Обнаружены выраженные дистрофические и некробиотические изменения эпителия канальцев в виде зернистой и вакуольной дистрофии и крупных фокусов некроза нефротелия проксимальных канальцев, преимущественно в корковом слое. Гидропическая дистрофия носила диффузный характер с поражением около $1/3$ эпителия канальцев коркового слоя почек. Некротические изменения эпителия наблюдали в $2/3$ канальцев, детритические гомогенные эозинофильные бесструктурные массы были локализованы в просветах поврежденных канальцев. В интерстиции коркового слоя и переходной зоне отмечены отек, диффузная лимфоплазмочитарная инфильтра-

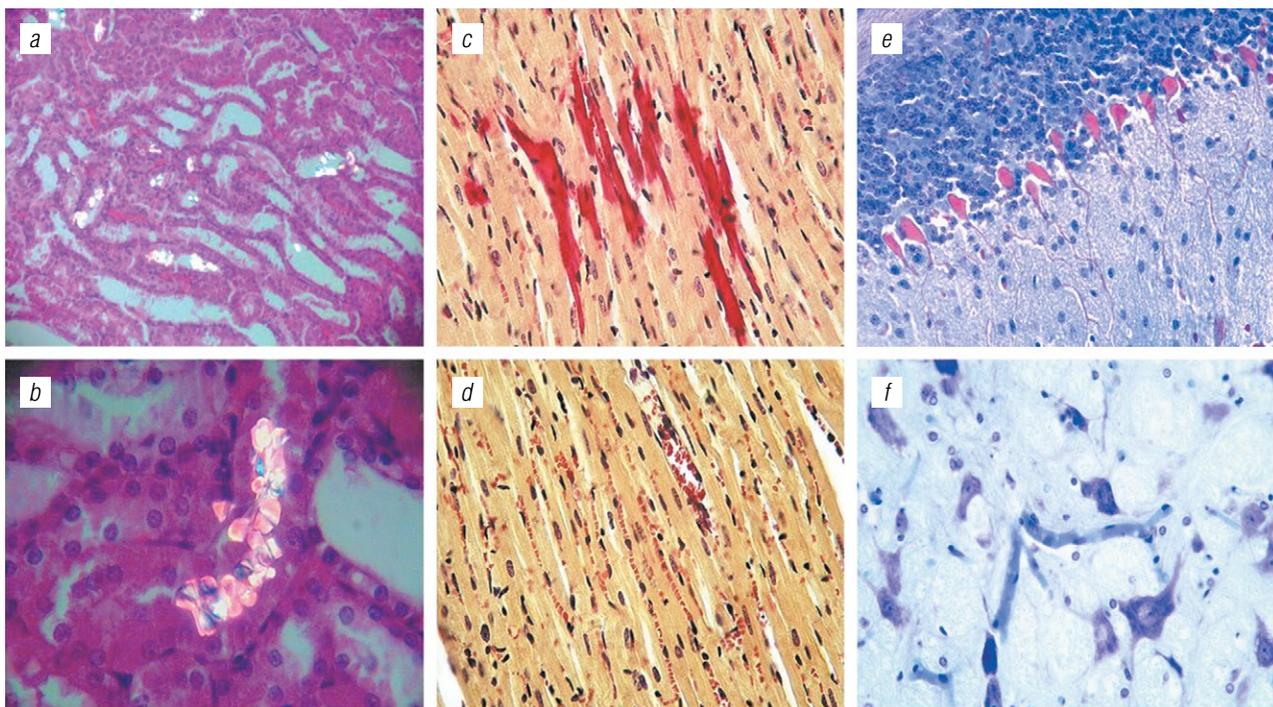


Рис. 1. Патологические изменения в почках (*a* — увеличение $\times 200$; *b* — увеличение $\times 400$), сердце (*c*, *d* — увеличение $\times 400$), мозжечке (*e* — увеличение $\times 400$) и стволовой части головного мозга (*f* — увеличение $\times 400$) крыс, погибших на 3-и сутки острого отравления этиленгликолем. Объяснения см. в тексте

Fig. 1. Pathological changes in the kidneys (*a*, $\times 200$; *b*, $\times 400$), heart (*c*, *d*, $\times 400$), cerebellum (*e*, $\times 400$) and brain stem (*f*, $\times 400$) of rats died on the 3rd day of acute poisoning by ethylene glycol. Explanations in the text

ция с примесью нейтрофильных гранулоцитов. При поляризационной микроскопии выявлены яркие светящиеся двулучепреломляющие кристаллы в форме вытянутых гирь и октаэдров, соответствующих оксалату кальция, преимущественно локализованные в просвете канальцев (см. рис. 1, *a*, *b*). Патологические изменения в почках свидетельствуют о развитии острого канальцевого некроза в результате осмотического, тубулoneкротического действия ЭГ и появления его метаболита — оксалата кальция.

В печени отмечали гидропическую дистрофию перипортальных гепатоцитов, лимфоплазмocитарную инфильтрацию портальных септ, полнокровие синусоидов. В гистологических препаратах сердца погибших крыс при обзорной окраске гематоксилином и эозином наблюдали умеренно выраженное расширение капилляров с полнокровием и наличием сладжа эритроцитов, отек интерстиция, кардиомициты с заметным анизокариозом. При элективной окраске гематоксилином, основным фуксином и пикриновой кислотой по Ли в левом желудочке и межжелудочковой перегородке обнаружены очаги фуксинофилии кардиомицитов за счет их контрактурных изменений II–III степеней с разволокнением стромы (см. рис. 1, *c*, *d*).

В легких выявили полнокровие капилляров микроциркуляторного русла, дистелектазы, диффузное утолщение альвеолярных стенок, расширение просвета терминальных бронхиол, выраженную острую везикулярную эмфизему, как следствие сильных глубоких инспираций перед наступлением смерти. При гистологическом исследовании препаратов головного мозга, окрашенных по методу пикро-Маллори, отмечали периваскулярный отек, расстройства гемодинамики во всех участках в виде микротромбов капилляров в стволе, мозжечке и коре.

В мозжечке обнаружены эктопия клеток Пуркинью ганглионарного слоя (из-за миграции клеток-зерен из зернистого слоя в молекулярный), уменьшение линейной плотности и изменение формы клеток Пуркинью в виде вытягивания (см. рис. 1, *e*). При окраске по Нислю крезильовым фиолетовым клетки Пуркинью содержали неодинаковое количество тигроида, ядрышки плохо дифференцировались. В стволовой части мозга в проекции центров ретикулярной формации — гигантклеточном и латеральном парагигантклеточном ядрах — наблюдали микротромбы в капиллярах, сочетание гиперхроматоза нейронов с наличием клеток-теней и перичеселлюлярного отека, нейронофагию, а также активацию глиальных клеток (см. рис. 1, *f*). Гистологические

Таблица 1 / Table 1

Биохимические параметры крови крыс при остром отравлении этиленгликолем через 24 ч после проведения антидотной терапии и введения димефосфона (Mean \pm SEM)

Blood biochemistry 24 hours after antidote and dimephosphon therapy of rat with acute ethylene glycol poisoning (Mean \pm SEM)

| Показатель | Экспериментальные группы крыс (n = 6 в каждой) | | | |
|--|--|-------------------|-------------------|----------------------------|
| | интактные | отравление ЭГ | ЭГ + САТ | ЭГ + ДМФ |
| Альбумин, г/л | 33,5 \pm 0,9 | 24,3 \pm 0,5* | 29,2 \pm 1,1 | 25,8 \pm 0,5* |
| Мочевина, ммоль/л | 6,0 \pm 0,7 | 12,3 \pm 0,6* | 9,5 \pm 0,8 | 8,8 \pm 0,8 |
| Креатинин, мкмоль/л | 69,7 \pm 8,0 | 159,7 \pm 20,5* | 129,5 \pm 15,8* | 97,5 \pm 4,7 |
| pH крови, ед. | 7,34 \pm 0,14 | 6,93 \pm 0,07* | 7,01 \pm 0,10 | 7,15 \pm 0,05 |
| Натрий, ммоль/л | 146,5 \pm 2,2 | 140,8 \pm 0,6 | 143,7 \pm 2,6 | 142,5 \pm 1,8 |
| Калий, ммоль/л | 6,1 \pm 0,4 | 6,2 \pm 0,7 | 6,9 \pm 0,3 | 5,7 \pm 0,3 |
| Кальций, ммоль/л | 3,9 \pm 0,1 | 3,2 \pm 0,2 | 3,1 \pm 0,2 | 3,0 \pm 0,1* |
| Магний, ммоль/л | 0,7 \pm 0,1 | 1,2 \pm 0,1* | 1,0 \pm 0,1 | 1,0 \pm 0,1 |
| Хлориды, ммоль/л | 108,0 \pm 1,8 | 87,3 \pm 2,0* | 96,0 \pm 2,2 | 98,7 \pm 1,6 |
| Бикарбонаты, ммоль/л | 28,0 \pm 0,4 | 24,0 \pm 0,8* | 24,5 \pm 0,8* | 26,3 \pm 0,7 |
| D-3-НВА, мкмоль/л | 29,7 \pm 5,7 | 351,7 \pm 42,3* | 167,0 \pm 24,0* | 209,7 \pm 62,5* |
| Лактат, ммоль/л | 0,7 \pm 0,1 | 2,6 \pm 0,4* | 1,7 \pm 0,2 | 1,5 \pm 0,3 |
| ЛДГ общая, Е/л | 400,2 \pm 77,5 | 984,4 \pm 76,8* | 864,8 \pm 82,4* | 640,6 \pm 61,9 |
| Δ pH, у. е. | 0,06 \pm 0,16 | 0,47 \pm 0,07 | 0,39 \pm 0,10 | 0,25 \pm 0,05 |
| Δ AG, ммоль/л | 0,5 \pm 2,2 | 21,2 \pm 2,3* | 13,2 \pm 1,8* | 7,5 \pm 1,3 [#] |
| Δ НСО ₃ , ммоль/л | 2,0 \pm 0,4 | 7,7 \pm 1,2 | 5,5 \pm 0,8 | 3,7 \pm 0,7 |
| Δ AG/ Δ НСО ₃ , у. е. | 1,0 \pm 1,0 | 2,9 \pm 0,4 | 2,7 \pm 0,5 | 2,6 \pm 0,8 |
| Δ Gar, ммоль/л | -1,5 \pm 2,6 | 13,5 \pm 1,9* | 7,7 \pm 1,9 | 3,8 \pm 1,7 |

Примечания: *отличия значимы по сравнению с группой интактных крыс при $p < 0,05$; #отличия значимы по сравнению с группой отравленных этиленгликолем крыс при $p < 0,05$; D-3-НВА — D-3-гидроксимасляная кислота, ЛДГ — лактатдегидрогеназа, Δ pH, Δ AG, Δ НСО₃, Δ AG/ Δ НСО₃ и Δ Gar — расчетные параметры кислотно-основного состояния и метаболического ацидоза (см. «Материалы и методы»). Остальные обозначения см. в списке сокращений.

Таблица 2 / Table 2

Функциональные показатели почек крыс при остром отравлении этиленгликолем на третьи сутки (Mean \pm SEM)

Kidney function tests of rat with acute ethylene glycol poisoning on day 3 (Mean \pm SEM)

| Показатель | Экспериментальные группы крыс (n = 6 в каждой) | | | |
|---------------------------------------|--|--------------------|---------------------|---------------------|
| | интактные | отравление ЭГ | ЭГ + САТ | ЭГ + ДМФ |
| Диурез, мл/сут | 14,8 \pm 1,7 | 7,9 \pm 1,5 | 13,2 \pm 1,3 | 15,1 \pm 1,8 |
| Минутный диурез, мкл/мин | 10,3 \pm 1,2 | 5,5 \pm 2,5 | 9,2 \pm 2,3 | 10,5 \pm 1,3 |
| Креатинин мочи, мкмоль/л | 5305,0 \pm 602,7 | 5615,0 \pm 637,1 | 4627,0 \pm 1060,0 | 4907,0 \pm 1183,0 |
| Концентрационный индекс по креатинину | 85,1 \pm 17,5 | 37,3 \pm 6,2 | 40,6 \pm 12,4 | 50,6 \pm 12,6 |
| Клиренс креатинина, мл/мин | 0,78 \pm 0,08 | 0,19 \pm 0,03* | 0,33 \pm 0,07* | 0,46 \pm 0,05 |

Примечание: *отличия значимы по сравнению с группой интактных крыс при $p < 0,01$. Обозначения, использованные в таблице, см. в списке сокращений.

изменения в структурах центральной нервной системы крыс соответствуют медленному темпу умирания при отравлении вследствие нейротоксического действия ЭГ.

При сопоставлении выявленных изменений в органах, функции которых остро критичны для жизнедеятельности, установлено, что ЭГ в токсических дозах оказывает комплексное нейротоксическое, нефротоксическое и кардиодепрессивное действие. Нейротоксическое действие спиртов обычно сопровождается симметричными поражениями центральной нервной системы вокруг третьего желудочка, акведука и четвертого желудочка, изменениями в подкорковых структурах, моторных глазодвигательных и вестибулярных ядрах. В наших наблюдениях коматозное состояние животных сопровождалось развитием эксикоза, что приводило к наслоению кетоацидоза на метаболический ацидоз вследствие метаболизма ЭГ и еще больше усиливало угнетение центральной нервной системы [21]. Несостоятельность насосной функции сердца и поражение витальных центров ретикулярной формации на фоне острого токсического повреждения почек приводят к смертельному исходу. Таким образом, причиной смерти животных стало острое отравление ЭГ с развитием токсической энцефалопатии с поражением витальных центров и мозжечка, ОПП с дистрофическими и некробиотическими изменениями эпителия канальцев по типу тубулярного некроза, очаговым контрактурным поражением кардиомиоцитов, гидропической дистрофии гепатоцитов, что соотносилось с данными как экспериментов [22], так и клинических наблюдений за отравленными ЭГ пациентами [1, 23].

На основании полученных результатов, а также литературных сведений мы выбрали дозу ЭГ 6 мл/кг для последующего моделирования и изучения эффективности САТ и ДМФ. Данная доза соответствует диапазону значений LD_{50} , представленных в литературе (полумлетальная доза вещества, вызывающая гибель 50 % испытуемых животных) [1].

Клиническая картина отравления в первые 2 ч у крыс из всех опытных групп была однотипной: «опьянение», нарушение координации движений, походки, увеличение частоты дыхательных экскурсий. В группе САТ отмечено уменьшение двигательной активности и частоты дыхания в сравнении с крысами, не получавшими терапии. Терапия ДМФ после первой дозы усиливала атаксию, но затем поведение животных становилось более упорядоченным.

Результаты биохимического исследования КОС крови крыс, а также функции почек пред-

ставлены в табл. 1 и 2 и на рис. 2. Поскольку величина АГ (расчетный показатель) не связана с уровнем лактат-ацидоза (измеренный показатель), то мы определяли эти показатели независимо и отдельно. Острое отравление ЭГ сопровождалось развитием смешанного метаболического ацидоза ($\Delta pH = 0,47$, $AG = 31,2$ ммоль/л) преимущественно за счет неизмеряемых кислот — метаболитов ЭГ ($\Delta Gap = 13,5$ ммоль/л), лактат- и кетоацидоза с накоплением D-3-гидроксимасляной кислоты (D-3-НВА) и респираторного ацидоза ($\Delta AG/\Delta HCO_3^- > 2$) из-за нейротоксического действия ЭГ. Лактат-ацидоз играет существенную роль в развитии кардиогенного шока у пациентов с различной патологией, в том числе при отравлениях. В то же время известно, что этанол и ЭГ уменьшают печеночный глюконеогенез, что приводит к снижению секреции инсулина, усилению липолиза, нарушению окисления жирных кислот и кетогенезу, вызывая метаболический ацидоз с анионной разницей, а метаболиты ЭГ оказывают прямое повреждающее действие на митохондрии [1, 3, 22]. Развитие «голодного» кетоацидоза связано с активацией бета-окисления жирных кислот в условиях гипогликемического состояния и описано в клинической практике [21]. Снижение уровня хлоридов (на 19 %), вероятно, обусловлено развитием у животных полиурии в первые часы отравления ЭГ.

Мы обратили внимание также на то, что величина ΔGap у отравленных крыс была больше 6 ммоль/л. Это обычно свидетельствует о наличии смешанного метаболического ацидоза-алкалоза. Однако эти результаты требуют

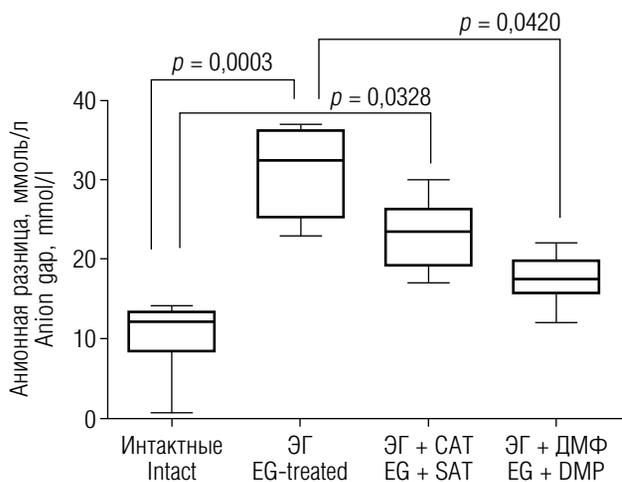


Рис. 2. Влияние стандартной антидотной терапии и димефосфона на анионную разницу у крыс при отравлении этиленгликолем. Обозначения см. в списке сокращений

Fig. 2. The effect of standard antidote therapy and dimephosphon on the anion gap in rats with ethylene glycol poisoning (box-plot with 5–95 percentile)

более детального изучения, так как уровень бикарбонатов был снижен умеренно (не ниже 20 ммоль/л) и измеренные значения могли быть неточны из-за высокой лактатдегидрогеназной активности сыворотки крови, причиной увеличения которой могло быть сопорозное состояние животных и гипоксическое повреждение мозга и почек, что в расчетном показателе ΔGar указывало на метаболический микст — ацидоз — алкалоз [24]. «Истинного» варианта сочетанного нарушения КОС установить не представилось возможным — это достаточно характерно для экзогенных интоксикаций. Мы предполагаем, что все же доминирующим вариантом дисбаланса КОС является метаболический ацидоз с высокой анионной разницей в сочетании с другими обменными нарушениями, что согласуется с данными научной литературы [1, 6–8].

Нефротоксическое действие ЭГ характеризовалось начальным подъемом уровня креатинина в 2,2 раза, мочевины в 2 раза, магния в 1,7 раза, что свидетельствовало об остром нарушении фильтрационной функции почек без гиперкалиемии (снижение клиренса креатинина в 4 раза, $p = 0,0005$). При этом соотношение креатинина в моче и крови не успело претерпеть статистически достоверного изменения. Было зарегистрировано развитие гипокальциемии ($p = 0,0076$), связанной, вероятно, с образованием оксалата кальция и его осаждением в органах-мишенях. Выявлено умеренное снижение уровня альбумина ($p = 0,0004$). Данные представлены в табл. 1 и 2.

Примененная нами терапия частично редуцировала нарушения КОС, которое оценивали по указанным выше показателям. Необходимо отметить, что ДМФ в несколько большей степени, чем САТ, нормализовывал рН и уровень бикарбонатов. Стандартная антидотная терапия ограничивала развитие гипермагниемии, лактат-ацидоза, повышение уровня мочевины. Существенного действия САТ в отношении острого нарушения фильтрационной функции почек, оцениваемого по уровню креатинина в крови и его клиренсу ($p = 0,0375$ по сравнению с группой интактных крыс), а также на величину ΔAG не выявлено, что свидетельствует о недостаточности такой терапии без применения комплекса мер (например, острого диализа) или добавления препаратов, обладающих дополнительно другими положительными фармакодинамическими свойствами.

Экспериментальная терапия частично протектировала нарастание энергодефицита и снижала уровень D-3-гидроксибутирата (САТ — на 52 %, ДМФ — на 40 %). В отношении увеличенной активности лактатдегидрогеназы

(в 2,46 раза, $p = 0,0012$) введение ДМФ, в отличие от САТ, приводило к умеренному снижению активности фермента (на 35 %), носившему характер отчетливой тенденции ($p = 0,1337$).

Терапия острого отравления ЭГ с помощью ДМФ позитивно влияла на функциональное состояние мочевыделительной системы, что выражалось в ограничении подъема у отравленных крыс уровня креатинина в крови (на 39 %) в сравнении с САТ, когда влияние на этот показатель было не столь значительным (снижение на 19 %). Димефосфон предотвращал снижение клиренса эндогенного креатинина (см. табл. 2). Таким образом, ДМФ оказывал антигипоксическое действие и способствовал сохранению функции мочеобразования, вероятно, за счет нормализации энергетических процессов в тканях-мишенях, обусловленных токсическим действием ЭГ и его метаболитов. Димефосфон существенно ограничивал подъем пула неизмеряемых анионов в крови отравленных крыс, что выражалось в снижении величин анионной разницы (в 2 раза), ΔpH (в 1,9 раза), ΔAG (в 2,8 раза), ΔGar (в 3,5 раза) за счет интенсификации ренального и дыхательного механизмов регуляции КОС.

Для визуализации статистической чувствительности тестов, характеризующих токсическое действие ЭГ, рассчитывали обратную величину уровня значимости ($1/p = p^{-1}$). Наибольший статистически достоверный отклик (2500–5000 p^{-1}) при отравлении ЭГ имели уровень хлоридов и d-3-гидроксибутирата, ΔAG , затем клиренс креатинина, уровни магния и альбумина (2000–2500 p^{-1}), AG, мочевины, креатинин крови и ΔGar (500–1000 p^{-1}). Полученные данные свидетельствуют о высокой достоверности развития при остром отравлении ЭГ метаболического и кетоацидоза со снижением уровня хлоридов, нарушением фильтрационной функции почек (рис. 3).

Доклинические исследования ДМФ на крысах показали его активность в качестве регулятора водно-электролитного баланса и КОС, антигипоксическую и антиоксидантную активность при низкой токсичности и отсутствии ингибирования ацетилхолинэстеразы. При воздействии терапевтической дозы ДМФ 500 мг/кг в сутки у крыс наблюдали адапционно-компенсаторные изменения дендритоаксонального дерева нейронов коры мозжечка [25, 26]. При введении этого препарата в условиях нашего эксперимента в дозе 150 мг/кг три раза (450 мг/кг в сутки) в течение первых суток при остром отравлении ЭГ происходило статистически достоверное снижение величин AG и ΔAG ($p = 0,042$), при этом удалось предотвратить раннее снижение клиренса креати-

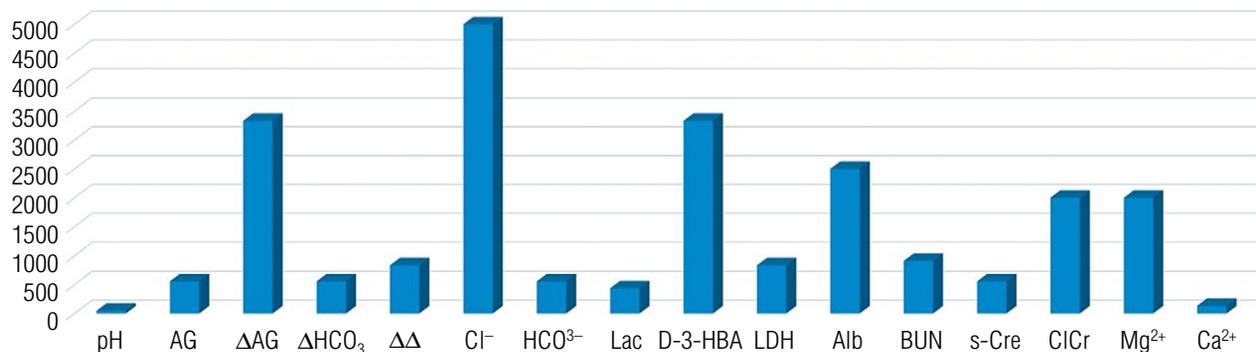
у. е. p^{-1} / $1/p$ -level

Рис. 3. Обратная величина уровня значимости измеренных показателей у крыс при отравлении этиленгликолем. Cl⁻ — хлориды; Lac — лактат; LDH — лактатдегидрогеназа; Alb — альбумин; BUN — азот мочевины крови; s-Cre — сывороточный креатинин; ClCr — клиренс креатинина

Fig. 3. The inverse of the significance level ($1/p$ -level) of the measured parameters in rats with ethylene glycol poisoning. Cl⁻ — chlorides; Lac — lactic acid; LDH — lactatdehydrogenase; Alb — albumin; BUN — blood urea nitrogen; s-Cre — serum creatinin; ClCr — clearance of creatinine

нина и развитие гиперазотемии — маркеров скорости клубочковой фильтрации, замедлить развитие лактат- и кетоацидоза. Выявленные эффекты превосходили таковые от САТ этанолом и натрия гидрокарбонатом, что открывает перспективу для применения ДМФ в лечении отравлений ядами, вызывающими метаболический ацидоз с высокой анионной разницей (метанол, ЭГ, салицилаты, нитропруссид натрия). В качестве показателей, на которые необходимо обращать внимание при терапии ДМФ, следует отметить альбумин и кальций крови, так как их уровни в крови крыс были снижены.

Заключение

Острое отравление этиленгликолем приводит к развитию смешанного варианта тана-тогенеза с поражением центральной нервной и мочевыделительной систем, а также сердца. Причиной смерти животных при воздействии дозы этиленгликоля 12 мл/кг однократно внутрижелудочно стало развитие токсической энцефалопатии, острого поражения почек с дистрофическими и некробиотическими изменениями эпителия канальцев по типу тубулярного некроза, очаговых контрактурных поражений кардиомиоцитов, гидропической дистрофии гепатоцитов. Для моделирования отравления с последующим изучением эффективности антидотной терапии мы использовали однократную дозу 6 мл/кг массы тела крыс. Наиболее достоверными маркерами сдвига кислотно-основного баланса и нефротоксичности у крыс при отравлении этиленгликолем являются уровни хлоридов, d-3-гидроксибутирата, анионная разница и ΔAG, а также клиренс

креатинина. Отравление этиленгликолем сопровождалось развитием смешанного варианта метаболического ацидоза с высокой анионной разницей больше 30 ммоль/л. По критерию $\Delta AG/\Delta HCO_3^- > 2$ мы судили о сочетании метаболического и респираторного ацидоза как следствия нейротоксического действия этиленгликоля, а по величине $\Delta Gap > 6$ ммоль/л — о наличии смешанного метаболического ацидоза-алкалоза.

Стандартная антидотная терапия этанолом в сочетании с гидрокарбонатом натрия предотвращала сдвиг pH, ограничивала лактат-ацидоз и кетоацидоз, повышение уровня мочевины, но не влияла на уровень гидрокарбонатов, креатинина и его клиренса, анионную разницу. Димефосфон предотвращал снижение клиренса креатинина и уровня бикарбонатов в крови, ограничивал увеличение активности лактатдегидрогеназы, оказывал статистически достоверное действие в отношении анионной разницы и ΔAG, но не влиял на гипокальциемию и гипоальбуминемию.

Сравнительный анализ двух методов коррекции ацидоза у крыс при остром отравлении этиленгликолем показал, что ДМФ оказывает более выраженное действие в отношении маркеров метаболического ацидоза (анионной разницы и ее производных расчетных величин).

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Соблюдение этических норм. Исследование одобрено протоколом этического комитета № НИР-102-NT/14 (10.06.2014) лабо-

ратории безопасности лекарственных средств в ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Острые отравления этанолом и его суррогатами / под ред. Ю.Ю. Бонитенко. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. — 224 с. [Ostrye otravleniya etanolom i ego surrogatami / Ed. by Y.Y. Bonitenko. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2005. 224 p. (In Russ.)]
2. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Марупов А.М. Эндотоксикоз при острых экзогенных отравлениях. — М.: БИНОМ, 2008. — 200 с. [Luzhnikov EA, Gol'dfarb YS, Marupov AM. Endotoksikoz pri ostrykh ekzogenykh otravleniyakh. Moscow: BINOM; 2008. 200 p. (In Russ.)]
3. Fowles J, Banton M, Klapacz J, Shen H. A toxicological review of the ethylene glycol series: Commonalities and differences in toxicity and modes of action. *Toxicol Lett.* 2017;278:66-83. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.06.009>.
4. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019;43(6):582-592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>.
5. Сивак К.В. Механизмы нефропатологии токсического генеза // Патогенез. — 2019. — Т. 17. — № 2. — С. 16–29. [Sivak KV. Mechanisms of toxic nephropathy. *Patogenez.* 2019;17(2):16-29. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2019.02.16-29>.
6. Tung RC, Thornton SL. Characteristics of laboratory confirmed ethylene glycol and methanol exposures reported to a regional poison control center. *Kans J Med.* 2018;11(3):67-69. 6122883.
7. Lee SH, Park S, Lee JW, et al. The anion gap is a predictive clinical marker for death in patients with acute pesticide intoxication. *J Korean Med Sci.* 2016;31(7):1150-1159. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.7.1150>.
8. McMartin K, Jacobsen D, Hovda KE. Antidotes for poisoning by alcohols that form toxic metabolites. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;81(3):505-515. <https://doi.org/10.1111/bcp.12824>.
9. Любишин М.М., Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н. Сравнительное изучение влияния ингибитора алкогольдегидрогеназы — амида изовалериановой кислоты и стандартной антидотной терапии на формирование отставленных последствий острого отравления этиленгликолем // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. — 2012. — Т. 13. — № 2. — С. 257–265. [Lyubishin MM, Sivak KV, Savateeva-Lyubimova TN. A comparative study of the formation of acute ethylene glycol poisoning delayed disorders under the therapy with either alcohol dehydrogenase inhibitor — isovaleric acid amide or standard antidote therapy. *Medline.ru. Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal.* 2012;13(2):257-265. (In Russ.)]
10. Ostermann M, Straaten HM, Forni LG. Fluid overload and acute kidney injury: cause or consequence? *Crit Care.* 2015;19:443. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-1163-7>.
11. Klein SJ, Lehner GF, Forni LG, Joannidis M. Oliguria in critically ill patients: a narrative review. *J Nephrol.* 2018;31(6):855-862. <https://doi.org/10.1007/s40620-018-0539-6>.
12. Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Петров А.Ю., Коваленко А.Л. Детоксикационные свойства ремаксола при полиорганной недостаточности на фоне тяжелого отравления этанолом // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2010. — Т. 73. — № 12. — С. 39–43. [Sivak KV, Savateeva-Lyubimova TN, Petrov AY, Kovalenko AL. Detoxicating properties of remaxol with respect to multiple organ failure during severe ethanol poisoning. *Eksp Klin Farmakol.* 2010;73(12):39-43. (In Russ.)]
13. Саватеева-Любимова Т.Н., Лесиовская Е.Е., Сивак К.В., и др. Доклиническое изучение безопасности препаратов реамберин и ремаксол // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2010. — Т. 73. — № 11. — С. 41–43. [Savateeva-Lyubimova TN, Lesiovskaya EE, Sivak KV, et al. Preclinical study of Reamberin® and Remaxol® safety. *Eksp Klin Farmakol.* 2010;73(11):41-43. (In Russ.)]
14. Саватеева-Любимова Т.Н., Лесиовская Е.Е., Сивак К.В. Гемато-, нефро-и гепатопротективные эффекты цитофлавина и настойки семян лимонника при интоксикации аминобензолом // Медицина экстремальных ситуаций. — 2008. — № 3. — С. 68–75. [Savateeva-Lyubimova TN, Lesiovskaya EE, Sivak KV. Gemato-, nefro-i hepatoprotektivnye efekty tsitoflavina i nastoyki semyan limonnika pri intoksikatsii aminobenzolom. *Meditina ekstremal'nykh situatsiy.* 2008;(3):68-75. (In Russ.)]
15. Rus-LASA. Директива Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. — СПб., 2012. — 48 с. [Rus-LASA. Direktiva Evropeyskogo parlamenta i Soveta Evropeyskogo soyuza 2010/63/EU ot 22 sentyabrya 2010 g. po okhrane zhivotnykh, ispol'zuemykh v nauchnykh tselyakh. Saint Petersburg; 2012. 48 p. (In Russ.)]
16. Rastegar A. Use of the DeltaAG/DeltaHCO3- ratio in the diagnosis of mixed acid-base disorders. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(9):2429-2431. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006121408>.
17. Chawla LS, Shih S, Davison D, et al. Anion gap, anion gap corrected for albumin, base deficit and unmeasured anions in critically ill patients: implications on the assessment of metabolic acidosis and the diagnosis of hyperlactatemia. *BMC Emerg Med.* 2008;8:18. <https://doi.org/10.1186/1471-227X-8-18>.
18. Mallat J. Assessment of metabolic acidosis and the use of albumin-corrected plasmatic anion gap in critically ill patients. *J Anesth Crit Care Open Access.* 2016;5(4). <https://doi.org/10.15406/jaccoa.2016.05.00190>.
19. Barlak A, Akar H, Yenicerioglu Y, et al. Effect of sodium bicarbonate in an experimental model of radiocontrast ne-

- phropathy. *Ren Fail.* 2010;32(8):992-999. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2010.502282>.
20. Мальков П.Г., Франк Г.А., Пальцев М.А. Стандартные технологические процедуры при проведении патологоанатомических исследований: клинические рекомендации RPS1.1. 2016. — М.: Практическая медицина, 2017. — 135 с. [Mal'kov PG, Frank GA, Pal'tsev MA. Standartnye tekhnologicheskie protsedury pri provedenii patologoanatomicheskikh issledovaniy: klinicheskie rekomendatsii RPS1.1. 2016. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2017. 135 p. (In Russ.)]
 21. Mostert M, Bonavia A. Starvation ketoacidosis as a cause of unexplained metabolic acidosis in the perioperative period. *Am J Case Rep.* 2016;17:755-758. <https://doi.org/10.12659/ajcr.900002>.
 22. Бонитенко Е.Ю., Бабаханян Р.В., Есаян А.М. Влияние ингибиторов алкогольдегидрогеназы на биохимические и гистологические изменения при экспериментальных отравлениях этиленгликолем и его эфирами // Нефрология. — 2003. — Т. 7. — № 3. — С. 60–66. [Bonitenko EY, Babakhanyan RV, Esayan AM. Effects of alcohol dehydrogenase inhibitors on biochemical and histological changes in experimental poisonings with ethylene glycol and its ethers. *Nephrology.* 2003;7(3):60-66. (In Russ.)]
 23. Garg D, Lim T, Irani M. A rare case of fatal stroke after ethylene glycol toxicity. *BMJ Case Rep.* 2015;2015. <https://doi.org/10.1136/bcr-2014-208855>.
 24. Collins ND, LeRoy BE, Vap L. Artificially increased serum bicarbonate values in two horses and a calf with severe rhabdomyolysis. *Vet Clin Pathol.* 1998;27(3):85-90. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.1998.tb01025.x>.
 25. Ипастова И.Д., Перфильева Н.П. Влияние димефосфона на макроморфологию головного мозга крысы // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2012. — № 3. — С. 77–81. [Ipastova ID, Perfil'eva NP. The influence of dimephosphone on macro-morphology of rat brain. *Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii.* 2012;(3):77-81. (In Russ.)]
 26. Ипастова И.Д., Перфильева Н.П. О влиянии димефосфона на морфологию мозжечка белой крысы // Вестник Брянского государственного университета. — 2014. — № 4. — С. 83–88. [Ipastova ID, Perfil'eva NP. Effect of the dimephosphone on the morphology of the cerebellum of the white rat. *Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2014;(4):83-88. (In Russ.)]

Сведения об авторах / Information about the authors

Константин Владимирович Сивак — канд. биол. наук, заведующий отделом доклинических исследований, ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-4064-5033>. E-mail: kvsivak@gmail.com.

Михаил Михайлович Любишин — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств, ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-2447-5222>. E-mail: lubishin_m@mail.ru.

Konstantin V. Sivak — PhD in Biology, Head of the Department of Preclinical Trials, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-4064-5033>. E-mail: kvsivak@gmail.com.

Mikhail M. Lyubishin — PhD in Biology, Researcher in Laboratory of Drug Safety, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-2447-5222>. E-mail: lubishin_m@mail.ru.

Елена Юрьевна Калинина — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств, ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России; доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7077-3584>. E-mail: drkalinina@yandex.ru.

Elena Yu. Kalinina — MD, PhD in Medicine (pathologist), Leading Researcher in Laboratory of Drug Safety, Smorodintsev Research Institute of Influenza; Associate Professor, Department of Pathological Anatomy, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7077-3584>. E-mail: drkalinina@yandex.ru.

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Константин Владимирович Сивак / Konstantin V. Sivak
E-mail: kvsivak@gmail.com