

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“ – ВАРНА**

**Факултет „Фармация“
*Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“***

Симеонка Димитрова Димитрова

**ПРОУЧВАНЕ ЕФЕКТИТЕ НА ИНТРАВЕНОЗНА ЛИПИДНА
ИНФУЗИЯ ПРИ ОСТРИ ИНТОКСИКАЦИИ С НЯКОИ
КСЕНОБИОТИЦИ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.3. Фармация

Научна специалност: Токсикология

Научен ръководител:

Проф. д-р Петко Пенков Маринов, д. м., МУ – Варна

Варна, 2021

Дисертационният труд е обсъден на заседание на катедрен съвет на Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет „Фармация“ при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, състояло се на 05.03.2021 година и е насочен за публична защита пред научно жури в състав:

Вътрешни членове

1. Проф. д-р Петко Пенков Маринов, д. м. – председател (становище)
2. Доц. инж. хим. Юличка Събева Събева д. м. (рецензия)

Външни членове

3. Проф. д-р Тоньо Илиев Шмилев, д.м. (рецензия)
4. Доц. д-р Юлия Венкова Раденкова - Саева, д. м. (становище)
5. Доц. д-р Евгения Иванова Бързашка-Христова, д. м. (становище)

Резервни членове

1. Доц. маг. фарм. Калоян Добринов Георгиев, д. ф. н. – вътрешен член
2. Проф. Васил Насков Атанасов, д. м. – външен член

Дисертационният труд съдържа общо 189 страници, онагледен е със 7 таблици, 67 фигури и 6 снимки. Библиографската справка обхваща 329 източника, от които 13 на кирилица и 316 на латиница.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 19.05.2021г. от 14.00 часа в електронна среда чрез Blackboard платформата в стаята „Катедра фармакология, токсикология и фармакотерапия“ на Факултет „Фармация“.

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

СПИСЪК НА НАЙ-ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ	4
I. ВЪВЕДЕНИЕ	6
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	8
III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	9
IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	15
A. ПРОУЧВАНЕ НА КЛИНИЧНИТЕ ДАННИ	15
B. ПРЕДКЛИНИЧНО ПРОУЧВАНЕ. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ	53
B. СРАВНЯВАНЕ НА ЕФЕКТИТЕ НА ЛИПИДНАТА ЕМУЛСИЯ ПРИ ХОРА И ПРИ ОПИТНИ ЖИВОТНИ С ОСТРА ИНТОКСИКАЦИЯ С ФОП	67
V. ИЗВОДИ	70
A. ИЗВОДИ ОТ ПРОУЧВАНЕ НА КЛИНИЧНИТЕ ДАННИ	70
B. ИЗВОДИ ОТ ЛАБОРАТОРНИЯ ЕКСПЕРИМЕНТ	70
VI. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	72
VII. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И УЧАСТИЯТА В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	73

СПИСЪК НА НАЙ-ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

А. НА КИРИЛИЦА

ГИТ	–	гастроинтестинален тракт
ДМЕ	–	диметоат
ЕЕГ	–	електроенцефалограма
ЕКГ	–	електрокардиограма
ИЛЕ	–	интравенозни липидни емулсии
КИЛООТ	–	Клиника за интензивно лечение на остри отровяния и токсикоалергии при ВМА – МБАЛ – Варна
ЛЕ	–	липидни емулсии
ЛПО	–	липидна пероксидация
МК	–	мастни киселини
ОБН	–	остра бъбречна недостатъчност
ОЕИ	–	остри екзогенни интоксикации
ОМЕ	–	ометоат
ОФ	–	органофосфати
ССС	–	съречно-съдова система
ФОП	–	фосфоорганични пестициди
ХОП	–	хлороорганични пестициди
ЦНС	–	централна нервна система

Б. НА ЛАТИНИЦА

AA	–	арахидонова киселина
ACh	–	ацетилхолин
AChE	–	ацетилхолинестераза
AE	–	антиепилептици
ALA	–	α -линоленова киселина
ALAT	–	аланин аминотрансферазата
ARDS	–	остър респираторен дистрес синдром
ASAT	–	аспартат аминотрансферазата
ATP	–	аденозин трифосфат
BDZ	–	бензодиазепини
CAT	–	каталаза
ChE	–	холинестераза
CYP450	–	цитохром P-450
DHA	–	докозахексанова киселина
EPA	–	ейкозапентаенова киселина
GABA	–	гама-аминомаслена киселина
GCS	–	Glasgow Coma Scale
GGT	–	гамаглутамилтрансфераза
GLU	–	глутамат

GPx	–	глутатионпероксидаза
GSH	–	глутатион
IPCS	–	Международна програма за химическа безопасност
LA	–	линолова киселина
LA	–	локални анестетици
LAST	–	локална анестетична системна токсичност
LCT	–	дълговерижните триглицериди
LD₅₀	–	средна смъртна доза
LDH	–	лактат дехидрогеназа
LDH	–	лактат дехидрогеназа
MCT	–	средноверижни триглицериди
OA	–	олеинова киселина
PL	–	фосфолипиди
PUFA	–	полиненаситени мастни киселини
RCTs	–	рандомизирани контролирани проучвания
ROS	–	реактивни кислородни видове
ROS	–	реактивни кислородни видове
TCA	–	трициклични антидепресанти
VPA	–	валпроева киселина

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Водещи в световен мащаб са остриите медикаментозни интоксикации, най-често свързани с прием на лекарствени вещества от групите на бензодиазепините, невролептиците и сърдечно-съдовите (Patel, 2013), следвани от отравянията с препарати за битови нужди, включително пестициди и в частност най-широко използваните органофосфатни инсектициди. Те, както и лекарствата от групите на аналгетиците, седативно-сънотворните, антидепресантите и антиепилептиците, водят до поява на различни токсични увреждания на нервната система.

По данни на Appellaniz и Manzanago (2005), за период от 25 години (1986 ÷ 2001), остриите медикаментозни интоксикации са с честота 3.58/100000 и представляват 0.45 % от всички причини за летален изход. За град Варна този показател е 0.4/100000, при население от 476 000 (Маринов, 2018).

През последните години в токсикологична практика навлиза един сравнително нов метод за лечение на остри интоксикации с липофилни вещества – интравенозната инфузия на мастни емулсии. Открит преди около 16 години за овладяване на системната токсичност на локалните анестетици, в частност на *Vipivacaine*, методът се базира на способността на някои мастни емулсии, добавени в голямо количество към кръвния ток, да образуват разширена липидна фаза (феноменът „липидна мивка“), която поглъща („улавя“) липидоразтворими лекарства и по този начин ги извлича от зоните с висока концентрация (сърце, мозък), задържа ги далече от мястото на токсично действие и предотвратява свързването им с таргетните рецептори.

Независимо от това, че напредъкът в научните изследвания предоставя все по-голям обем информация за положителния терапевтичен ефект на мастната емулсия и за прилагането ѝ като допълнителен метод в лечебната схема при остри интоксикации, в научната литература не е налична достоверна информация за предполагаема невропротективна роля на липидната емулсия. Докладваните изследвания са спорадични и недостатъчни.

У нас този иновативен подход намира сравнително ограничено приложение. От 2012 г. интравенозните липидни емулсии (ИЛЕ) се прилагат епизодично при лечение на остри отравяния с някои невролептици, антидепресанти и бензодиазепини, а в последно време със сърдечно-съдови и антиепилептични лекарствени продукти. През 2014 г. и 2018 г. успешно са включени в лечебната схема при пациенти на Клиника за интензивно лечение на остри отравяния и токсикоалергии при ВМА – МБАЛ – Варна (КИЛООТ), след отравяне, съответно с фосфоорганичен пестицид (*Fenitrothion*/Агрис 1050) (Marinov et al., 2018) и с мастноразтворими морски токсини (отравяне от мекотели и след консумация на някои рифови риби).

Към момента не са извършвани изследвания върху невропротективния ефект на ИЛЕ при остри отравяния с липофилни агенти, както при експериментални животни, така и при хора.

Редица проучвания показват, че с най-висока честота сред медикаментозните интоксикации са отравянията с бензодиазепини, което се потвърждава и от данните на КИЛООТ. Бензодиазепините се свързват със специфични рецептори, потенцирайки ефектите на ГАВА, която е основния задържан медиатор в ЦНС. Инхибиторът провеждането на импулсите във възходящата активизираща система на ретикуларната формация, лимбичната система и хипоталамуса.

С висока социална значимост са отравянията с антиепилептични (антиконвулсивни) лекарствени продукти, които са фармакологично свързани с бензодиазепините и чието класическо приложение цели намаляване броя, тежестта и/или продължителността на гърчове (конвулсиите) при епилепсия. Техните НЛР се характеризират предимно със симптоми от страна на ЦНС. Основните им механизми на действие са свързани с блокиране на потенциал-зависими йонни

каналы, повишаване активността на инхибиторната (потискащата) GABA-ергична медиация, намаляване активността на възбудната глутаматергична система. Могат да действат по един или повече от посочените основни механизми. Според Mottram и сътр. (2011) свободните мастни киселини намаляват инхибирането на транспортната функция на Na^+ -каналы, предизвикано от *Bupivacaine*, в хетероложна тъканна култура, в резултат на което модулацията на сърдечните Na^+ -каналы може да допринесе за намаляване проявите на токсичност на локалния анестетик. Потискане блокирането на Na^+ -каналы предполага повлияване на тези транспортери и при остра токсичност, индуцирана от други блокери на тези каналы (в т. ч. някои антиепилептици).

Пестицидите са отровни химични съединения, специално създадени от човека за борба срещу вредителите. Наименованието им произлиза от латинските думи „pest“ (вреда) и „cide“ (убивам) т. е., това са вещества, унищожавачи вредителите. Най-често използваните за растителна защита препарати, с разнообразно действие, са фосфоорганичните пестициди, които се прилагат масово в селското стопанство и бита като инсектициди, фунгициди и родентециди. Органофосфатите оказват токсично действие върху редица органи и системи, като се характеризират предимно с невро- и хепатотоксичност. Поради широкото си разпространение и висок леталитет отравянията с фосфорорганични пестициди се явяват световен проблем (Kang et al., 2009, Cander et al., 2011, Chien, 2012, Lee et al., 2013, Sun et al., 2015). Според Маринов (2002) тези химически съединения предизвикват 55 % от всички отравяния с пестициди, като най-чести са интоксикациите с диметоат (Би 58) (Маринов и кол., 1999).

Повечето ксенобиотици (от *xenos* – чужд и *bios* – свързано с "живот") нямат специфичен антидот. В клиничната картина на острите отравяния с лекарствените средства, проявяващи невротоксично действие и с пестициди, се наблюдават разнообразни психични и соматовегетативни симптоми, а понякога фатални неврологични и сърдечно-съдови усложнения. Те са резултат от прякото въздействие на токсичните агенти върху различни структури на централната и периферната нервна система (екзогенна токсикоza) или на първични поражения и недостатъчност на паренхимни органи и системи, отговорни за детоксикацията (ендогенна токсикоza).

Най-тежките клинични прояви на токсично увреждане на нервната система са токсичната кома и острите интоксикационни психози. Токсичната кома най-често се развива при отравяния с вещества, потискащи ЦНС. От съществено значение за практиката е определянето на степента на потискане на съзнанието, респективно дълбочината на коматозното състояние. Тези критични състояния изискват незабавно интензивно лечение, което налага внедряване в рутинната практика на по-ефективни методи.

Настоящият дисертационен труд е свързан с изследване на протективната роля на интравенозната инфузия на мастни емулсии в качеството ѝ на антидот при остри интоксикации с невротоксични медикаменти от групите бензодиазепини и антиепилептици, и с пестициди.

Проучването върху ефектите на ИЛЕ при остри екзогенни интоксикации с някои липофилни ксенобиотици, проявяващи невротоксично действие, като лекарствени продукти и пестициди, в т. ч. фосфорорганични, може да бъде принос в посока подобряване качеството и ефективността на лечението при пациенти с индуцирани токсични неврологични увреждания.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на дисертационния труд е да се проучат терапевтичните ефекти на интравенозни липидни емулсии при остри отравяния с някои липофилни ксенобиотици, проявяващи невротоксично действие – медикаменти и фосфорорганични пестициди (клинични данни) и при експериментален модел на остра интоксикация с органофосфатния инсектицид диметоат.

За достигане на целта са формулирани следните основни задачи:

1. Ретроспективно, за период от 10 години (2010 ÷ 2020 г.), да се проучат острите екзогенни интоксикации с липофилни лекарствени продукти, проявяващи невротоксично действие и с пестициди, при пациенти, лекувани в Клиника за интензивно лечение на остри отравяния и токсикоалергии при ВМА – МБАЛ – Варна.

1.1. Да се установят динамиката и честотата на приложение на интравенозни липидни емулсии при острите отравяния с невротоксични лекарствени продукти и с пестициди.

1.2. Да се идентифицират водещите медикаменти с невротоксично действие и вида на пестицидите, причина за острите екзогенни интоксикации, във всяка етиологична група.

2. Да се обработят и анализират основните данни, вписани в медицинската документация на пациентите – демографски, клинични, клинично-лабораторни, продължителност на хоспитализацията и изхода от проведената терапия.

2.1. Да се оценят различията в клиничната изява в зависимост от настъпилите усложнения (неврологични, сърдечно-съдови, чернодробни и бъбречни) при пациентите, лекувани със стандартните реанимационни и детоксично-депурационни методи и тези, при които в терапевтичната схема е включена ИЛЕ, продължителността на болничния престой и изхода от интоксикацията, с акцент върху леталитета.

3. Да се проучи протективния ефект на препоръчаната за терапия на остри отравяния в хуманната медицина болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ при опитни плъхове с диметоат-индуцирана остра интраперитонеална интоксикация *in vivo*

3.1. Да се проучи ефекта на ЛЕ върху сърдечната и дихателната честота, и преживяемостта при отровените с диметоат експериментални гризачи.

3.2. Да се проучат ефектите на ЛЕ върху някои поведенчески функции при експерименталните гризачи чрез изследване на общата им двигателната активност с тест на откритото поле (*Open-field test*) и на изследователското поведение с *Hole board test*.

3.3. Да се проследят възможните нежелани реакции от страна на основни органи, свързани с приложението на ЛЕ върху опитните животни, чрез сравняване на биохимичните показатели с тези на контролната група.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Дисертационният труд е реализиран в Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет по Фармация, Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов“ – Варна и Клиника за интензивно лечение на остри отравяния и токсикоалергии (КИЛООТ) при ВМА – МБАЛ – Варна.

1. Клиничен материал

Проучването е ретроспективно и обхваща пациенти с остри отравяния, преминали през КИЛООТ при ВМА – МБАЛ – Варна за 10-годишен период (2010 ÷ 2020 година). Достъпът до медицинската документация е осигурен с разрешение от Комисията по етика към ВМА – МБАЛ – Варна.

При 900 пациенти отравянето е с лекарствени средства, проявяващи невротоксично действие, при 100 – с пестициди. 951 от тях са лекувани със стандартната реанимационна и детоксично-депурационна терапия, а при 49, в качеството на антидот, е приложена ИЛЕ.

Обект на нашето изследване са **321** пациенти. При **301** отравянето е с лекарствени средства от фармакологични групи с изразени ЦНС-ефекти – ВЗД (**226**) и АЕ (**75**), при **20** – с пестициди. **286** пациенти (ВЗД – **201**, АЕ – **69**, ФОП – **16**) са лекувани със стандартната реанимационна и детоксично-депурационна терапия, а при **35** (ВЗД – **25**, АЕ – **6**, пестициди – **4**) в качеството на антидот, е приложена интравенозна липидна емулсия.

2. Експериментални животни

Опитите за проучване протективния ефект на 20 % ИЛЕ при остра интоксикация с диметоат са проведени върху 42 мъжки полово зрели плъхове от порода Wistar с тегло 250 ÷ 300 g, осигурени от Вивариума на МУ – Варна. Животните са отглеждани при стандартни лабораторни условия в пластмасови клетки – 12-часов цикъл светло/тъмно, неограничен достъп до питейна вода и храна за гризачи, осигурени оптимална температура (20 ÷ 25 oC), влажност и вентилация на помещенията. Експерименталните процедури по третиране на животните и експериментите с тях са извършени в съответствие с на националните и международните изисквания и правилата за работа с експериментални животни на Комисията по етика на БАБХ (Наредба № 20 от 01.11.2012 г. за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изискванията към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им, в сила от 01.01.2013 г., издадена от Министерство на Земеделието и храните, Обн. ДВ бр. 87 от 09.11.2012 г.), основаващи се на Европейската директива (2010/63/EU) и Разрешително за използване на животни в опити (141/23.06.2016 г.) в съответствие с правилата за хуманно отношение и работа с експериментални животни във Вивариума на МУ – Варна, съобразени със законовите разпоредби в Република България.

3. Фармакологични средства и химикали

- Dimethoate Cheminova A/SP.O. Box 9DK-7620 Lemvig Denmark (чистота 95.8 %) – органофосфатен инсектицид. Прилага се под форма на 40 % работен инжекционен разтвор.

- Липидна емулсия *Intralipid*[®] 20 % 500 mL (Fresenius Kabi AB)
- Физиологичен разтвор – банка 0.9 % NaCl, 500 ml (B. Braun Melsungen AG)
- Midazolam, amp. 5 mg/mL инжекционен разтвор (Panpharma Laboratories, France)
- Diethyl ether, anhydrous 1L (Sigma-Aldrich) (чистота $\geq 99.7\%$) – за седация преди декапитация

4. Апарати и прибори

- ЕКГ-монитор Bionett Co, Ltd, модел BM3 – за мониториране на сърдечната дейност на плъховете
- Центрофуга Ohaus, Frontier[™] 5706 – за фракциониране на кръвните проби
- Костотом – ножица за бързо прекършване на гръбначния стълб в областта на врата при опитни гризачи
- Експериментална постановка за Open field test
- Експериментална постановка за Hole board test

5. Методи, използвани при анализа на клиничните данни

5.1. Документални

Проучена е медицинската документация на пациентите, обект на настоящия труд. За оценка на клиничната ефективност на ИЛЕ те са разпределени в две групи:

- Група, при която не е използвана ИЛЕ (n = 286)
- Група пациенти с включена ИЛЕ към стандартната терапевтична схема (n = 35): *Intralipid* 20 % – при 22, *Lipovenous* 10 % – при 7, *Kabiven* – при 5 и *Periolimel* – при 1.

Направен е сравнителен анализ на основните параметри, вписани в медицинската документация на болните (лекувани без ИЛЕ и тези с приложена ИЛЕ) – демографски, причина за отравянето, вид на токсичния агент, коморбидност, клинични и клинико-лабораторни изследвания при потъпването, проведено лечение. За установяване на нежелани лекарствени реакции, свързани с приложението на ИЛЕ като антидот, са проследени усложненията в хода на терапията (неврологични, сърдечно-съдови, чернодробни), продължителността на болничния престой и изхода от интоксикацията, с акцент върху леталитета.

6. Методи, използвани при изследване на протективния ефект на липидна емулсия при опитни плъхове

6.1. Поведенчески експериментални протоколи

За оценка ефективността на ЛЕ върху невротоксичността на *диметоата* експерименталните плъхове са подложени на поведенчески тестове – за проследяване на общата двигателна активност с теста на откритото поле (*Open field test*) и на проучвателната активност – с тест за пространствена ориентация (*Hole board test*).

6.1.1. Метод за изследване на двигателната активност— тест на откритото поле (*Open field test*) (Walsh & Cummins, 1976)

Според Lister (1990) този поведенчески метод осигурява уникалната възможност за проследяване на общата двигателна активност на гризачи, изследователското поведение, а също така и за получаване на ориентировъчни данни за ефекти върху тревожността.

Постановка. Откритото поле представлява затворена платформа с размери 100×100×40 cm, с непрозрачни стени, боядисани в бяло. Подът е разграфен на еднакви по размер полета, очертани с дебели линии (20×20 cm), оформящи еднакви квадрати.

Опитният плъх се поставя в центъра на полето, което се обособява като централен регион. На всяко животно се дава свобода на движение в рамките на 5 min в откритото поле и визуално се проследяват неговите активности. Отчитат се броя на хоризонталните движения (полетата, които гризачът преминава с четирите си лапи), вертикалните движения (брой изправяния на задни лапи, включително подпирането до стените на полето с предни лапи) и времето, прекарано в централното поле в секунди. След всяко животно полето се почиства с 95 % етилов спирт и се подсушава.

Приема се, че централните полета се свързват със заплахата за гризачите в по-голяма степен отколкото периферията. По този начин времето, прекарано в периферията (тигмотаксис), също може да се счита показател за нивото на тревожност (Simon et al., 1994), а удължаването на времето на престой в централните полета се интерпретира като намалено ниво на тревожност.

Тестът се извършва след интраперитонеално инжектиране на разпределените в групи плъхове с изследваните вещества. Чрез поведението на гризача върху откритото поле се проследяват промените в двигателната активност в отговор на въздействието на въведения препарат. Високата честота на наблюдаваните поведенчески феномени (брой на пресичанията на обозначените върху полето линии и на изправяне на плъховете на задни лапи) е показателна за стимулиране на общата локомоция.

6.1.2. Тест за проследяване на проучвателната активност (*Hole board test*) – по метода на Boissier и Simon (1964)

Тестът се провежда с мъжки половозрели Wistar плъхове. Експерименталният протокол се базира на вроденото изследователско поведение на гризачите, поставени в нова среда – стереотип на „потопяне“ на главата до ушите в дупките, разположени по пода. Честотата на тази активност е индикатор за проучвателно поведение. Гризачите, поставени в новата среда, изследват пода на постановката по характерен начин – неколккратно подушване на отвора с последващо ориентиране към следващия и т. н.

Липсата на изследователска активност се отчита като наличие на негативно влияние върху нормалното любопитство на опитните животни.

При повтарящи се изследвания степента на изследователската активност за изучаване на първоначално непознатата обстановка намалява, което е показател за разпознаване на постановката от страна на животните.

Постановка: Открита платформа (40 x 40 cm), оградена с прозрачни стени. Върху експерименталното поле са изработени 16 отвора с диаметър 3 cm, разположени на разстояние 10 cm (от център до център). Наблюдава се проучвателната активност на животните и нейните вариации, предизвикани от приложението на изследваните вещества.

При обучението в началото на експеримента (обучителна фаза) всяко животно, при спазване на тишина, се поставя върху равномерно осветеното поле, за период от 3 минути, след което се инжектират съответните вещества. Тестът за определяне проучвателната активност и пространствената памет на плъховете се провежда 24 часа след последното третиране, като се проследява същия показател за период от 3 минути.

6.2. Експериментален модел на индуцирана с диметоат остра интраперитонеална интоксикация при плъхове

По данни на Международната програма за химическа безопасност (IPCS, 1989), *диметоатът* има умерена остра токсичност при бозайници и е класифициран в „клас II, умерено опасно“ съединение (LD_{50} при *плъхове* е 400 mg/kg телесно тегло). Според Директива 423 на Организацията за икономическо сътрудничество и развитие (OECD) средната летална орална доза на *диметоат* за плъхове LD_{50} е 300 ÷ 500 mg/kg. В проучвания за остра токсичност при плъхове Gallo and Lawryk (1991) определят средна летална доза на *диметоат* при интраперитонеално приложение – LD_{50} i.p. в диапазона 180 ÷ 330 mg/kg. След анализ на наличните в специализираната литература данни, за достигане на поставената от нас цел, е подбрана средна работна доза LD_{50} i.p. на *диметоат* 200 mg/kg.

Като средство за седация на плъховете при измерване на сърдечната и дихателната честота е използван Midazolam (Tsukamoto, 2016), бензодиазепин с много кратък плазмен полуживот ($T_{1/2}$ 1.5 ÷ 2.5 h), използван като премедикация при анестезия, седация преди хирургични интервенции, а също и като сънотворно. Той е предпочитано седативно-сънотворно лекарство, защото постига бърза седация при минимални сърдечно-съдови ефекти, в т. ч. слабо повлиява сърдечната честота (Heinzmann, 2012). Приложен е в стандартната за целта доза 4 mg/kg i.p. (посочена в гайдлайните по обща анестезия и аналгезия при мишки и плъхове, март 2016 година).

Използваната доза на ЛЕ е съобразена с определената от G. Weinberg и одобрена от Американското дружество по регионална анестезия (ASRA) болус 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ за използване като антидот при животозастрашаващи липофилни лекарствени интоксикации (Neal, 2012) и с оценката за безопасност на ЛЕ (Rothschild, 2010).

Всички работни разтвори (*физиологичен, диметоат, Midazolam и ЛЕ*) са въвеждани интраперитонеално в допустимите за плъхове обеми – 0.5 mL/100 g т.м.

Критерий за преживяемост, след острото отравяне с *диметоат*, е броя оцелели животни за 24 часа в изследваните групи.

6.2.1. Дизайн на лабораторен експеримент № 1

В този експериментален модел са наблюдавани сърдечната и дихателната честота, и е отчетена преживяемостта при опитните животни с диметоат-индуцирана остра интоксикация, при които в качеството на антидот е приложена липидна емулсия в препоръчаната за лечение на остри отравяния в хуманната медицина болус доза ИЛЕ.

Използвани са **21** опитни гризачи, разпределени на случаен принцип в 3 групи по 7 животни:

- Група I – здрави плъхове, третирани само с физиологичен разтвор (*контролна*)
- Група II – плъхове, третирани с *диметоат*
- Група III – плъхове, третирани с *диметоат* и лекувани с болус от 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ.

На 5-та, 10-та, 15-та, 20-та, 25-та и 30-та минута след въвеждането на *диметоата* и ЛЕ, са измервани дихателната и сърдечната честота.

Седираните плъхове се поставят легнали по гръб, като самозалепващите се електроди на ЕКГ се закрепват билатерално в сърдечната област (Снимки № 1, 2).



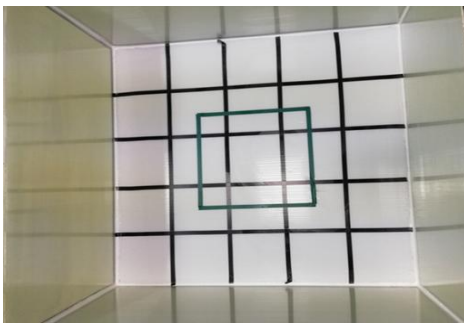
Снимка № 1. Позициониране на електродите на ЕКГ- монитора в сърдечната област на гризача



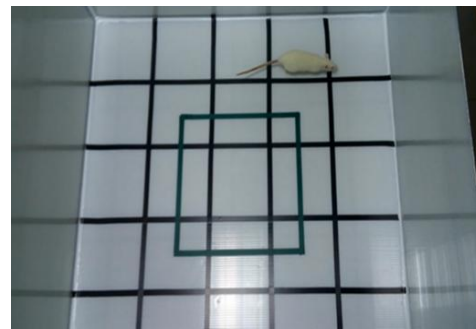
Снимка № 2. Запис на сърдечната честота при плъх

6.2.2. Дизайн на лабораторен експеримент № 2

За оценка ефективността на препоръчителната болус доза ЛЕ върху невротоксичността на *диметоата* при опитните гризачи са изследвани общата двигателна активност – с теста на откритото поле (*Open-field test*) (Снимки 3, 4) и проучвателната активност – с тест за пространствена ориентация (*Hole board test*) (Снимки 5, 6).



Снимка № 3. Опитна постановка на *Open-field test*



Снимка № 4. Плъх, подложен на *Open-field test*



Снимка № 5. Опитна постановка на *Hole board test*

Снимка № 6. Плъх, подложен на *Hole board tes*

Експериментът е проведен с **21** опитни животни, разпределени на случаен принцип в 3 основни групи по 7 животни във всяка:

- Група I – здрави плъхове, третирани само с физиологичен разтвор (*контролна*)
- Група II – плъхове, третирани с *диметоат*
- Група III – плъхове, третирани с *диметоат* и лекувани с болус доза 1.5 mL/kg 20 % *ЛЕ*, въведена на 20-та минута, след интоксикацията.

Проследени са възможните нежелани реакции от страна на основни органи, свързани с приложението на *ЛЕ* върху опитните гризачи, чрез сравняване на клинично-лабораторните показатели: ChE, глюкоза, билирубин (общ и тотален), общ холестерол, триглицериди, чернодробни ензими (GGT, ASAT, ALAT), урея и креатинин с тези на контролната група.

След края на експеримента плъховете се декапитират под етерна наркоза. Необходимата за клинично-лабораторните изследвания кръв се взема от подезичната вена. Не по-късно от 30 min, след вземането, кръвните проби се центрофугират в продължение на 10 min при 3000 rpm, при стайна температура +25°C. Веднага след това отделената плазмената фракция се замразява в хладилник при T-20°C и така се съхранява до анализа. При отровените с *диметоат* животни кръвта се взема веднага след смъртта им, а при преживелите гризачи – на 5-я ден след интоксикацията.

Пробите кръвна плазма са изследвани в специализираната Медико-диагностична лаборатория „Сити Лаб“ – Варна.

7. Статистическа обработка на данните

Анализът на клиничните данни е проведен чрез софтуерен пакет „Statistica 7.0” и статистическите функции в “Excel 2016” и обхваща двустранно сравняване на относителните дялове на качествени показатели, определени като отношение на броя пациенти, носещи даден признак, към общия брой пациенти в разглежданата група. Междугруповото и вътрешно-груповото сравняване на тези дялове се извършва по критерия на Student при предположение, че изследваните признаци се подчиняват на Гаусовото разпределение, и по теста за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон.

За статистическа обработка на експерименталните данни са използвани специализиран софтуер „GrafPad Prism 7.0“ и функциите на „Excel 2006“. При междугруповото и вътрешно-груповото сравняване е приложена еднофакторна ANOVA.

При всички проведени статистически анализи се приема допустимо ниво на доверителна вероятност $P < 0.05$, разделено на четири възходящи класа: $P < 0.05$, $P < 0.01$ (висока сигнификантност) и $P < 0.001$ (много висока сигнификантност). Резултите са закръглени до 3-та цифра, както е прието в приложната математика за обработка на експериментални данни.

IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

ПРОУЧВАНЕ НА КЛИНИЧНИТЕ ДАННИ

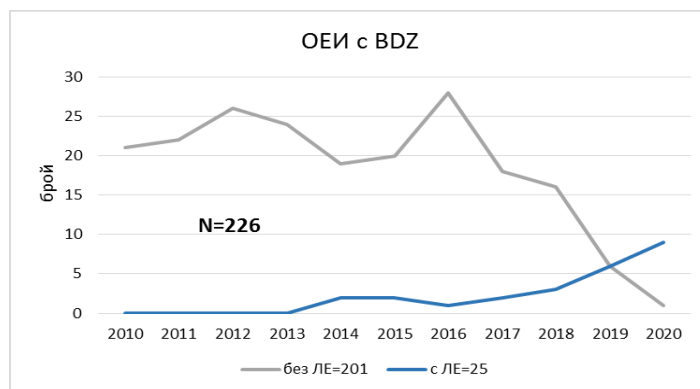
Динамиката и честотата на ОЕИ с лекарствени продукти, повлияващи ЦНС (антиепилептици, антидепресанти, BDZ и невролептици), при пациенти, лекувани в КИЛООТ при ВМА – МБАЛ – Варна, за периода 2010 ÷ 2020 г., са представени на таблица 1.

Табл. 1. Остри екзогенни интоксикации с медикаменти, повлияващи ЦНС

Година	АЕ		BDZ		Антидепресанти		Невролептици	
	без ЛЕ	с ЛЕ	без ЛЕ	с ЛЕ	без ЛЕ	с ЛЕ	без ЛЕ	с ЛЕ
2010	12	0	21	0	6	0	15	0
2011	6	0	22	0	6	0	10	0
2012	3	0	26	0	7	0	9	0
2013	11	0	24	0	6	0	9	0
2014	6	0	19	2	6	0	14	0
2015	12	0	20	2	6	4	8	1
2016	9	0	28	1	9	4	11	2
2017	4	0	18	2	9	4	8	5
2018	2	3	16	3	4	6	1	6
2019	1	3	6	6	2	3	2	2
2020	3	0	1	9	0	1	0	8
Общо	69	6	201	25	61	22	87	24

За целта на извършеното от нас проучване са подбрани пациенти с ОЕИ с лекарства от фармакологичните групи BDZ и АЕ, с изявиени ЦНС-ефекти. Останалите две групи (невролептици и антидепресанти) се характеризират предимно със сериозна кардиотоксичност, която не е обект на дисертационния труд, като допълнително съображение е увредения ментален статус на контингента, което би усложнило идентифицирането на причините за интоксикацията.

Редица проучвания показват, че с най-висока честота сред медикаментозните интоксикации са отравянията с бензодиазепини, което се потвърждава и от данните на КИЛООТ за изследвания от нас период (Фиг. 1).



Фиг. 1. Честота на ОЕИ с BZD при пациентите, лекувани в КИЛООТ (без ИЛЕ и с приложение на ИЛЕ) през периода 2010 ÷ 2020 г.

Бензодиазепините се свързват със специфични рецептори, потенцирайки ефектите на GABA, която е основния инхибиторен медиатор в ЦНС. Потискат провеждането на импулсите във възходящата активираща система на ретикуларната формация, лимбичната система и хипоталамуса.

Изборът на антиепилептичните медикаменти се основава на тяхната социална значимост, фармакологичната им свързаност с бензодиазепините и на НЛР, характеризиращи се предимно със симптоми от страна на ЦНС. От друга страна, основните им механизми на действие са свързани с блокиране на потенциал-зависими йонни канали, повишаване активността на инхибиторната (потискащата) GABA-ергична медиация, намаляване активността на възбудната глутаматергична система. Могат да действат по един или повече от посочените основни механизми. Според Mottram и сътр. (2011) свободните мастни киселини намаляват инхибирането на транспортната функция на Na⁺-каналите, предизвикано от Vupivacaine, в хетероложна тъканна култура, в резултат на което модулацията на сърдечните Na⁺-каналите може да допринесе за намаляване проявите на токсичност на локалния анестетик. Потискане блокирането на Na⁺-каналите предполага повлияване на тези транспортери и при остра токсичност, иницирана от други блокери на тези канали (в т. ч. някои антиепилептици).

За проучване терапевтичната ефективност на мастната емулсия при остри екзогенни интоксикации с лекарствени продукти от групите BZD и АЕ, проявяващи невротоксично действие и с пестициди, в т. ч. ОФ, пациентите (n = 325) са разпределени в две групи – група, при която е приложена само стандартната реанимационна и детоксично-депурационна терапия (група без ИЛЕ, n = 286) и група, при която в лечебната схема е включена и интравенозна липидна емулсия (група с ИЛЕ, n = 35).

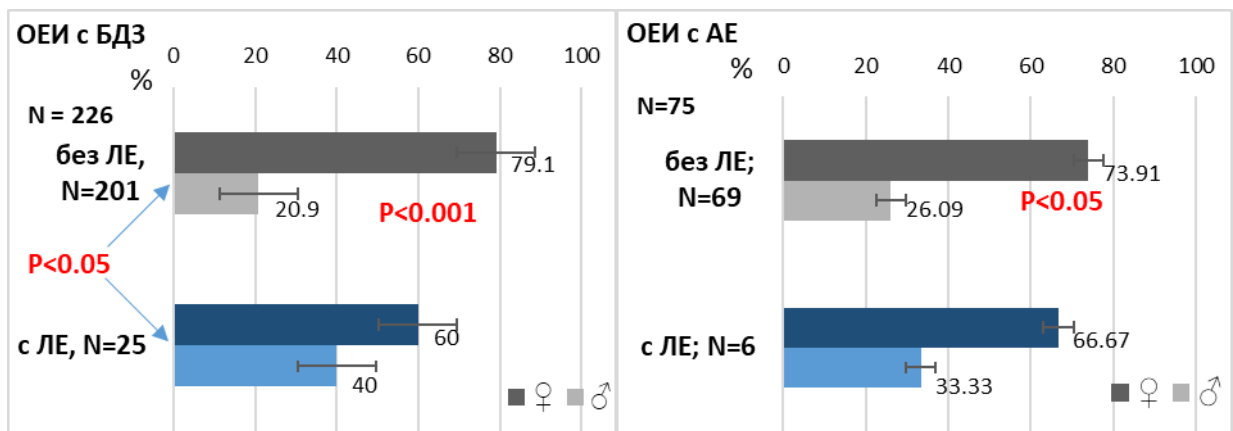
1. Остри екзогенни интоксикации с бензодиазепини и антиепилептици

1.1. Анализ на основните демографски и клинични данни, вписани в медицинската документация на пациентите

1.1.1. Пол и възраст

❖ Пол

На фигури 2 и 3 е представено разпределението на изследваните пациенти с ОЕИ с лекарства от групите BZD и АЕ по полов признак.



Фиг. 2 и 3. Разпределение на пациентите с остри медикаментозни интоксикации по пол
(тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

При интоксикациите с BZD, жените в групата без ИЛЕ (n = 201) са 159, а мъжете – 42-ма (P < 0.001).

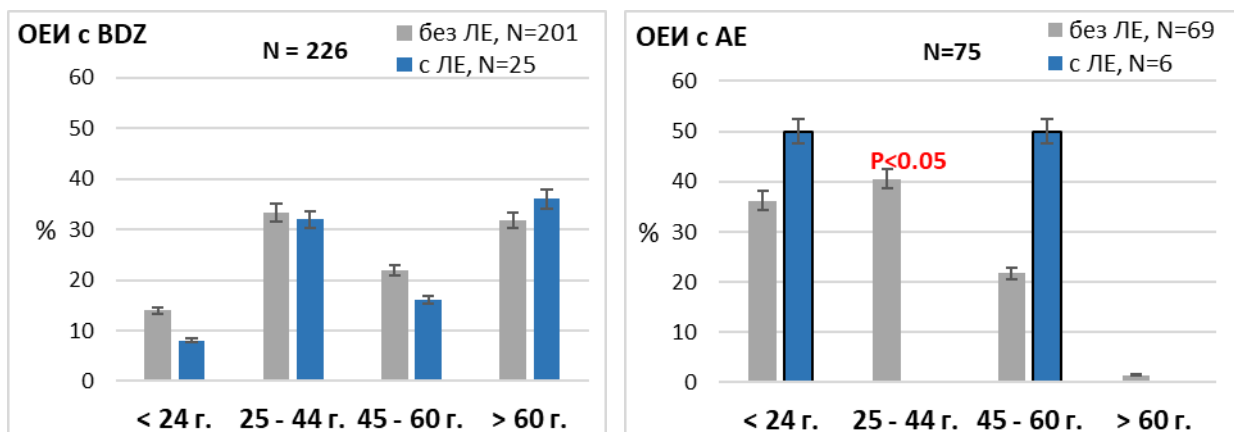
При интоксикациите с АЕ, жените в същата група (n = 69) са 51, мъжете – 18 (P < 0.05).

Процентното съотношение за двете групи се движи в границите, съответно 79.1 – 73.91 % при жените и 20.9 – 26.09 % при мъжете. Същите тенденции се наблюдават и при пациентите, при които е приложена ИЛЕ – общо при 19 жени (15 + 4) и 12 мъже (10 + 2).

В заключение разпределението по полов признак показва сходство в двете разглеждани фармакологични групи, като ОЕИ при жените бележат 3-кратно по-висока честота.

❖ Възраст

Разпределението на пациентите с ОЕИ с медикаменти от групите BZD и АЕ по възраст е представено на фигури 4 и 5.



Фиг. 4 и 5. Разпределение на пациентите с остри медикаментозни интоксикации по възраст
(тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

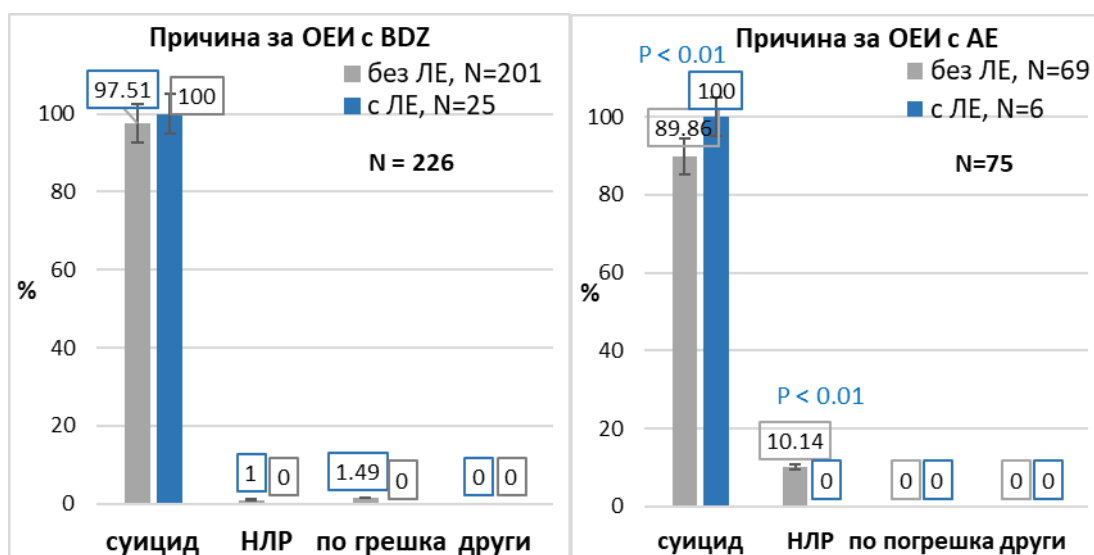
46.46 % от случаите на ОЕИ с BZD са при пациенти на възраст до 45 години (n = 105) и 53.54 % – при тези над 45-годишна възраст (n = 121). С ИЛЕ са лекувани общо 23-ма пациенти, съответно по 10 и 13 от двете възрастови групи.

Пациентите с остро отравяне с АЕ на възраст до 45 години (n = 56) са 74.67 %, а тези над 45 (n = 19) – 25.33 %, като тук се отчитат 3-кратно повече интоксикации при хората в по-млада възраст (P < 0.05). ИЛЕ е приложена при 3-ма пациенти и от двете възрастови групи.

1.1.2. Причина за възникване на острата интоксикация и вид на токсичната нокса

❖ Причина за ОЕИ

Разпределението на пациентите според причината за възникване на отравянето е показано на фигури 6 и 7.



Фиг. 6 и 7. Разпределение на пациентите с остри медикаментозни интоксикации в зависимост от причината за възникването

(t-критерий на Стюдент при предполагаемо нормално разпределение)

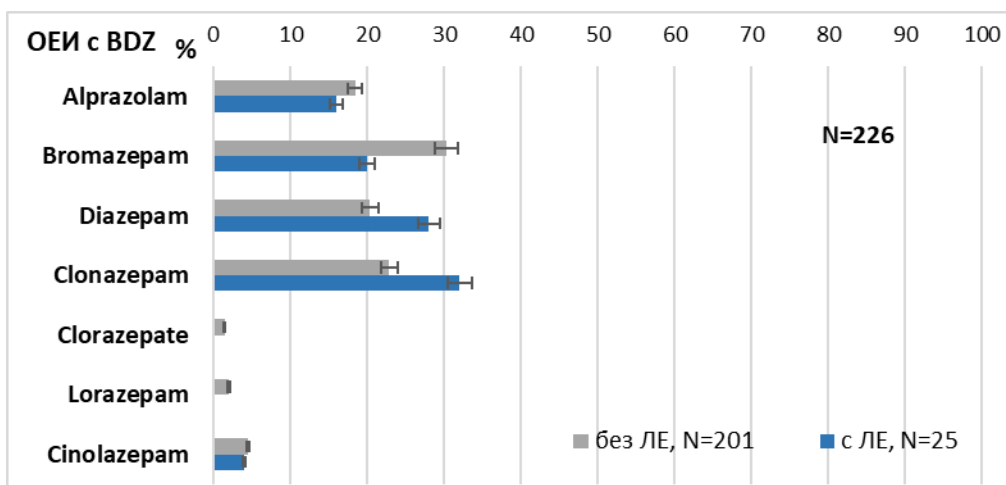
Почти всички ОЕИ са резултат от суицидни опити.

Причина за интоксикациите с BZD при 221 (97.79 %) от общо 226 пациенти, са самоотравяния, при 3-ма пациенти (1.33 %) са резултат от случаен прием (по погрешка), а при 2-ма (0.88 %) – от НЛР. При 25 болни е приложена ИЛЕ.

Подобна е причината за интоксикациите и с АЕ, при които суицидните инциденти са при 68 пациенти (90.67) от общо 75, а при 7 (9.33 %) – НЛР (P < 0.001). Лечение с ИЛЕ е проведено при 6 пациенти.

❖ Вид на токсичната нокса

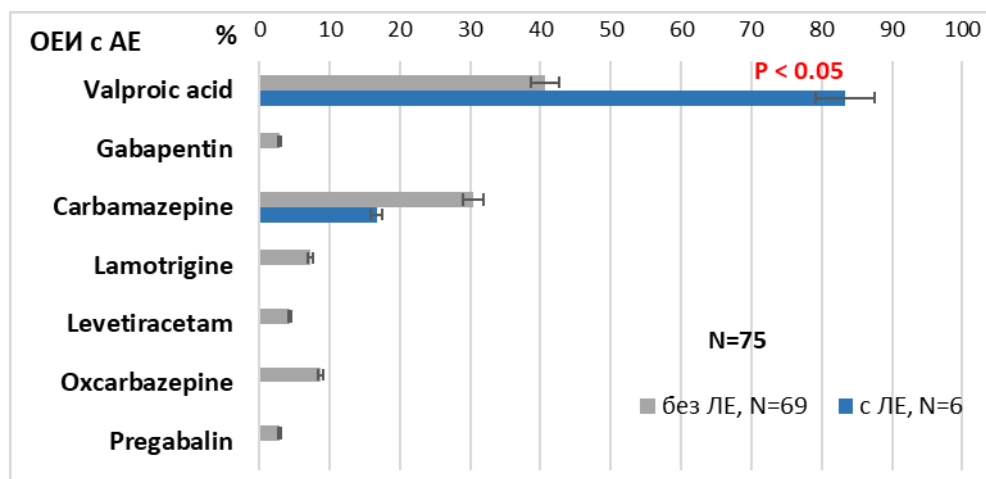
На фигури 8 и 9 е представено разпределението на ОЕИ, в зависимост от вида на лекарствените продукти.



Фиг. 8. Разпределение на пациентите с ОЕИ с ВЗД

В групата на бензодиазепините водещи са ОЕИ с Bromazepam 30.35 % (n = 61), следвани от тези с Clonazepam – 22.89 % (n = 46), Diazepam – 20.4 % (n = 41) и Alprazolam – 18.41 % (n = 37).

Най-големият брой пациенти, при които е преценена необходимостта от лечение с ИЛЕ, е след прием на Clonazepam – 8 (32 %) и Diazepam – 7 (28 %). ИЛЕ не е приложена само при пациентите с остри отравяния с Clorazepate и Lorazepam.



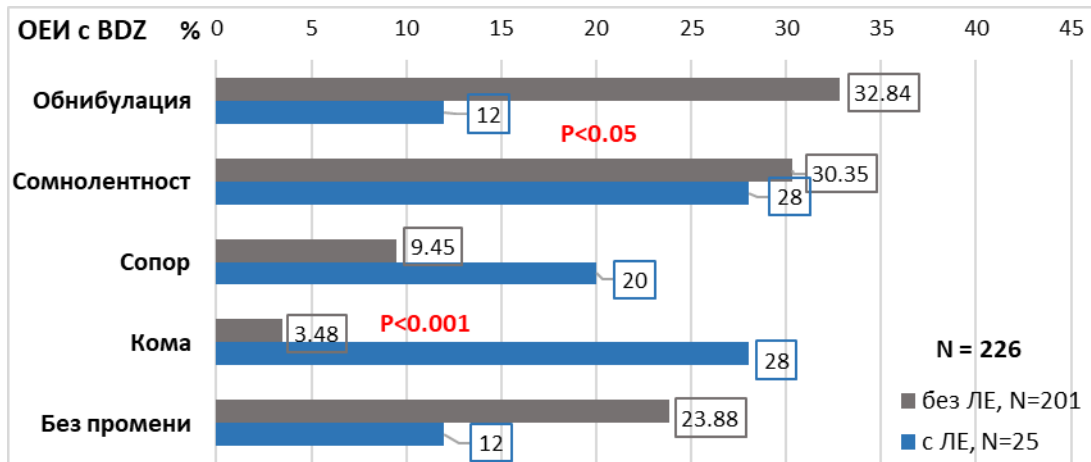
Фиг. 9. Разпределение на пациентите с ОЕИ с АЕ

В групата на антиепилептичните лекарства, водещи са острите интоксикации с Valproic acid – при 28 пациенти от 75 (83.3 %, P < 0.05) в сравнение с пациентите, лекувани без ИЛЕ), следвани от тези с Carbamazepine – при 21 (30.43 %), като съответно при 5 и 1 от тях е приложена ИЛЕ.

1.1.3. Клинични прояви

❖ Промени в съзнанието

Промените в съзнанието са показани на фигури 10 и 11.



Фиг. 10. Промени в съзнанието при пациентите с остри интоксикации с BZD
(тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

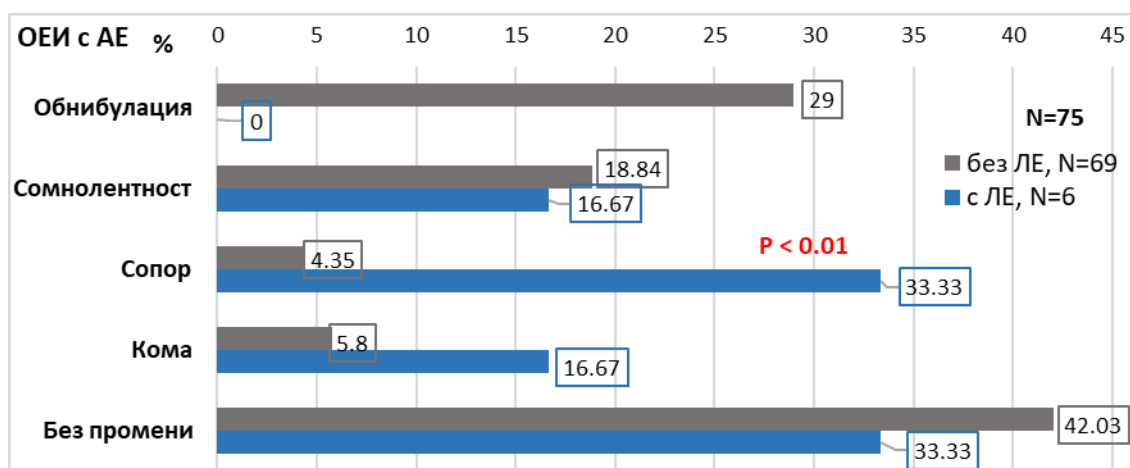
Анализът на данните показва, че в случаите на ОЕИ с BZD, ИЛЕ се прилага по преценка на специалистите при по-тежките случаи на потисната ЦНС-функция – най-често при сомнолентност (28 %), сопор (20 %) и кома (28 %) ($P < 0.001$ в сравнение с групата, лекувана без ИЛЕ).

Показателен е случаят на 85-годишна жена (**П. Д. Й**), приета в КИЛООТ при ВМА – МБАЛ, Варна, след поглъщане на комбинация от 10 таблетки (100 mg) Diazepam и 20 таблетки (10 mg) Alprazolam със суицидна цел. Живее в хоспис и е намерена в безпомощно състояние, неконтактна, с разпръснати около нея празни блистери с липсващи таблетки (Diazepam 10 mg, таблетки) и Xanax (0.5 mg). Точният час на интоксикацията е неизвестен. При приемането ѝ в клиниката е в силно увредено общо състояние – **кома I степен** и **мозъчен оток, кардиотоксичен синдром, застойна сърдечна недостатъчност и хипостатичен белодробен застой, обща мускулна хипотония**. Корем – мек, леко балониран, с аероколия. При палпация – неувеличени черен дроб и слезка. Крайниците са без отоци. Везикуларно дишане с хрипове от горни дихателни пътища. Липсват съществени симптоми от страна на ССС – синусов ритъм, сърдечна честота 80 удара/мин, ясни сърдечни тонове и артериално налягане 120/70 mmHg. Проведеното ЕКГ изследване отчита дифузни реполяризационни промени в ST-T отвеждането, без динамика. Придружаващите заболявания при хоспитализацията са неизвестни, като по-късно са уточнени от близките: депресивен епизод, артериална хипертония III стадий, МСБ, ИБС и ХСН. Има проведена холецистектомия по повод на хроничен холецистит. Резултатите от лабораторните изследвания показват повишени стойности на СУЕ (30 mm/h), на общия билирубин и на ASAT, като другите трансминази, уреята и креатинина са в референтните стойности. Предприета е стандартната за случая терапия, като в хода ѝ се наблюдава развитие на остър анемичен синдром, вероятно свързан с ерозивно увреждане на стомашната лигавица. Допълнително към лечението, с антидотна цел, е въведена ИЛЕ (*Intralipid* 20 %), първоначално като болус 1.5 mL/kg, последвана от постоянна инфузия (0.25 mL/kg/min). Настъпва бързо подобряване на съзнанието – от кома към обнибулация с активно движение на крайниците, мозъчният оток е овладян. На 2-я ден персистира токсична енцефалопатия с частична дезориентация, свързана с предходната мозъчна корава атрофия (установена от компютърна томография на главата при хоспитализацията), резултат от стари мозъчно-съдови инциденти и психоорганичен синдром, които налагат продължителни грижи.

Токсичното увреждане на миокарда е овладяно, отхвърля се съдова коронарна недостатъчност, хемодинамиката е стабилна, без прояви на сърдечна недостатъчност. Белодробният застои също е овладян и след проведено антибиотично лечение пациентката е изписана на 5-я ден, афебрилна с везикуларно дишане. По отношение на анемичния синдром, развил се в хода на интоксикацията, се приема, че е свързан с обостряне на хроничен гастродуоденит, поради което са дадени указания за продължително лечение с перорален железен препарат и протектори на стомашната лигавица.

На фона на многото придружаващи заболявания и възрастта на пациентката, е прието, че ИЛЕ, е допринесла за положителното развитие на клиничната картина на тази остра интоксикация, без настъпване на остра дихателна недостатъчност и дехоспитализация без токсикологични промени.

Същите съображения, както при ОЕИ с BZD, определят приложението на ИЛЕ и при острите интоксикации с АЕ – при сомнолентност (16.67), сопор (33 %) и кома (16.7 %) (Фиг.11).



Фиг. 11. Промени в съзнанието при пациентите с остри интоксикации с АЕ
(тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

Прави впечатление високият ръст на случаите с приложена ИЛЕ при пациенти без промени в съзнанието. Това се дължи на обстоятелството, че те са приети за стационарно лечение скоро след оралния прием на медикаментите, при липса изявена на все още церебротоксична симптоматика, но с анамнестични данни за прием на голяма доза.

Пациентите със сопор, лекувани с ИЛЕ са 8 пъти повече от лекуваните без ИЛЕ (33.3 % спрямо 4.3 %, P < 0.01). Трикратен ръст се наблюдава и при случаите с тежка промяна в съзнанието – кома (5.8 % без ИЛЕ и 16.6 % с ИЛЕ). Тези данни показват, че ИЛЕ е приложена при сериозно увреждане на съзнанието, вследствие ОЕИ с АЕ, като водещ е церебротоксичния синдром.

Интравенозна липидна емулсия е приложена при случай на смесена интоксикация с алкохол, Carbamazepine и атипичен невролептик Quetiapine при 57-годишен мъж. **Т. Д. В** е намерен в безпомощно състояние, неконтактен, с разпръснати около него празни опаковки с липсващи таблетки (блистер от 10 таблетки Carbamazepine, 200 mg) и още един от 10 таблетки (Brevenox 25 mg, 30 tabl. film). Приведен е в КИЛОТ от екип на СМП. Пациентът е с дългогодишна алкохолна зависимост, периодично е споделял суицидни намерения, многократно е лекуван в психиатрична клиника. От 2 ÷ 3 дни е в пореден „запой“ с последна консумация на алкохол (по данни на сестра му) вечерта преди интоксикацията. Придружаващи заболявания, наред с алкохолната зависимост,

са алкохолна полиневропатия, ХОББ II степен, състояние след белодробна туберкулоза, двустранен неврит на слуховите нерви, гастроезофагеалната рефлуксна болест, нелекувана артериална хипертония. Обективно състояние при хоспитализация – тежко увредено общо състояние, **съзнание – сонор към кома I степен**. Заема пасивно легнало положение в леглото, астеничен хабитус, със запазен мускулен тонус. Афебрилен, кожата и видимите лигавици са сухи и с нормален цвят, еластичност и тургор – съответни за възраста. Зеници – еднакви, нормално широки, мудна фотореакция. Нистагъм не може да се изследва, усеща се лек дъх на алкохол. Следи от повърнати материи с кафеникава оцветка. Дихателната честота е в нормата (14 вдишвания/мин.). Наблюдава се смесен тип дишане, изострено везикуларно, отслабено двустранно с пръснати сухи, свиркащи хрипове от ГДП двустранно на фона на леко удължен експириум, предвид заболяването. От страна на ССС – тахиритмична сърдечна дейност, данни от ЕКГ – сърдечна честота 135 удара/мин. Сърдечни тонове ясни, без патологични шумове, артериално налягане – нормално (120/75 mmHg). Корем – мек, неболезнен. Черен дроб – леко увеличен. Клинико-лабораторните изследвания при хоспитализацията показват повишени нива на кръвната захар, уреята, АСАТ и GGTP. Приложена е стандартната терапевтична схема. Поради очакваното развитие на невротоксичност под формата на тежка ЦНС-депресия и гърч, вследствие на високата доза Carbamazepine, както и сърдечно-съдова нестабилност, индуцирана от смесената интоксикация с алкохол и Quetiapin, се включва ИЛЕ (*Lipovenos 20 %*), като непрекъснатата инфузия в първите 24 часа. Осигурява се мониториране на ССС, наблюдение и лечение на тахиаритмията с β -блокера Metoprolol. Пациентът е изписан на 2-я ден след отравянето, афебрилен, без усложнения.

В този случай, в хода на заболяването са овладени интоксикацията и токсичния сонор. Положителната динамика и постепенното овладяване на церебротоксичния и на сърдечно-съдовия синдроми, без развитие на значителна депресия на ЦНС и усложнения, показват че ИЛЕ е подходящото допълнително лечение при смесени интоксикации, в т. ч. с алкохол, дори и при предприети интензивни грижи в по-късен период от отравянето.

Резултатите корелират с данните от наличните в литературата няколко доклада за приложението на ИЛЕ при случаи на ОЕИ с антиепилептици.

Niğose и сътр. (2014) съобщават за 15-годишна пациентка с остра интоксикация с Carbamazepine, проявяваща се с респираторна депресия и гърчове, при която е използвана ИЛЕ. Хемодиализа не е приложена, 20 % ИЛЕ е въведена болус. Изписана е 8 дни по-късно без усложнения и последствия.

Аналогичен случай на остра карбамазепинова интоксикация, при която успешно е приложена липидна емулсионна терапия, съобщават Agulnik и сътр. (2015). Момиче на 15-годишна възраст е прието, след поглъщане на около 280 таблетки Carbamazepine със забавено освобождаване, с увреден ментален статус (GCS 5) и изявена ацидоза. Появилите се гърчове и регистрираните тежки изменения в ЕЕГ са показателни за сериозна кортикална дисфункция. Поради изключително високите плазмени нива на Carbamazepine (583.74 $\mu\text{mol/mL}$, най-високите регистрирани в литературата) и нестабилния общ статус, е приложена терапевтична комбинация от ИЛЕ, хемодиализа, плазмафереза, продължителна вено-венозна филтрация (continuous veno-venous filtration) и ендоскопска интестинална деконтаминация. Пациентката се възстановява напълно без органични или неврологични усложнения. При последващи *in vitro* лабораторни изследвания екипът установява, че фармакологично активният метаболит на Carbamazepine (Carbamazepine-10,11-епоксид) води до хиперполяризация на митохондриалната мембрана, което

е в подкрепа на хипотезата, че лекарството е причина за митохондриалната дисфункция (Agulnik и сътр., 2017).

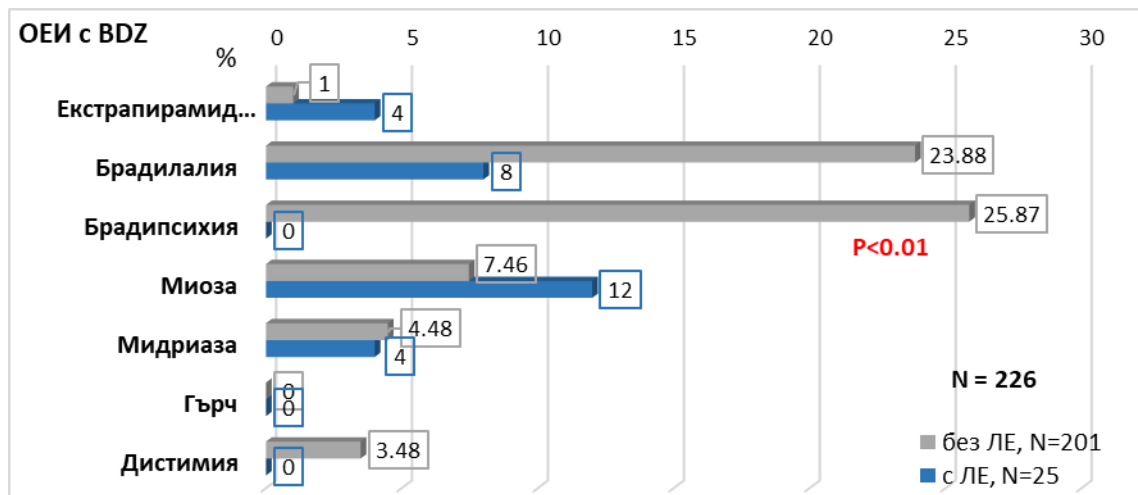
Avcil и сътр. (2015) описват случай при млад мъж, приет в спешно отделение 7 часа след поглъщане на 2.8 g Carbamazepine в лекарствена форма с удължено освобождаване. Извършена е стомашна промивка с активен въглен през назогастрална сонда. Пациентът е объркан, с потиснато съзнание, стойност по GCS 12, с лека хипотония, ускорен пулс и удължен QT-интервал. Приложена е болус доза от 100 mL Clinoleic® 20 % (Baxter Healthcare Limited, Норфолк, Англия), последвана с инфузия от 100 mL/h, която се поддържа в продължение на 4 часа, в добавка към многократните дози активен въглен и интравенозна хидратация с физиологичен разтвор. 60 минути след болус въвеждането на ИЛЕ, стойността по GCS се повишава до 14, пациентът възстановява съзнанието и ориентацията. Напуска интензивното отделение на 3-я ден с GCS стойност 15, без неврологични и кардиологични компликации.

Категорично потвърждение на ефикасността и безопасността от лечението с ИЛЕ при предозиране с антиепилептици предоставя интересен клиничен случай при млада жена с интоксикация с Oxcarbamazepine, която е лекувана успешно с ИЛЕ, при пълно възстановяване и отсъствие на нежелани реакции. Пациентката **Н. Р. А. (2019 г.)** е 20 годишна бременна жена, с придружаващо заболяване епилепсия, погълнала умишлено с цел прекратяване на бременността, около 2 часа преди хоспитализацията, Trileptal (600 mg tabl. film) или общо около 36.0 g Oxcarbamazepine. Постъпва в КИЛООТ при ВМА – МБАЛ, Варна в леко увредено общо състояние, контактна, адекватна с бледа кожа. Самостоятелно подвижна, без видими травматични увреждания. Наблюдава се лека сънливост и адинамия. Дишането е везикулярно с дихателна честота 16 вдишвания/мин., без хрипове. От страна на сърдечно-съдовата система няма отклонения, сърдечната честота е 90 удара/мин, с лека хипотония RR 110/70 mm/Hg. Към момента няма субективни оплаквания от страна на бременността. Матката е увеличена, отговаряща на бременност V л.м., плодът е жив. Лабораторните изследвания не показват промени в стойностите на чернодробните ензими (ALAT, ASAT, GGT). Предприето е стандартно лечение със стомашна промивка, венозни инфузии на глюкозни разтвори, Nootropil, Quamatel, Furanthril. Резултатите от химико-токсикологичното изследване на проба урина показват наличие на Iminostilben, Carbamazepine, Oxcarbamazepine, Metamizole, Caffeine, Levetiracetam. В терапевтичната схема, в качеството на антидот, се включва липобаза *Intralipid* 20 %. След въвеждането на ИЛЕ се наблюдава стабилна хемодинамика, състоянието на пациентката не прогресира към влошаване. Течно-хроматографските резултати от анализа на кръвна проба показват повишени нива на Oxcarbamazepine и Carbamazepine, което потвърждава ефекта на „улавяне“ на липофилни лекарства от мастната емулсия. Консултът с акушер-генеколог също не установява наличие на очакваните токсични синдроми, матката е в нормално състояние, а плодът е жив с фетални движения. Пациентката е изписана след 2-дневен престой в клиниката, хемодинамично стабилна, без болков синдром, без прояви на енцефалопатия, без гърчови еквиваленти, с препоръки към общопрактикуващия лекар за насочване към психолог, продължаване лечението на заболяването (епилепсия), контрол и проследяване на състоянието.

Този случай по категоричен начин демонстрира способността на ИЛЕ да неутрализира токсичните вещества, така, че те да не достигат до прицелните органи, в случая мозък и плацента, което се доказва от липсата на ЦНС-симптоми при майката и от състоянието на плода.

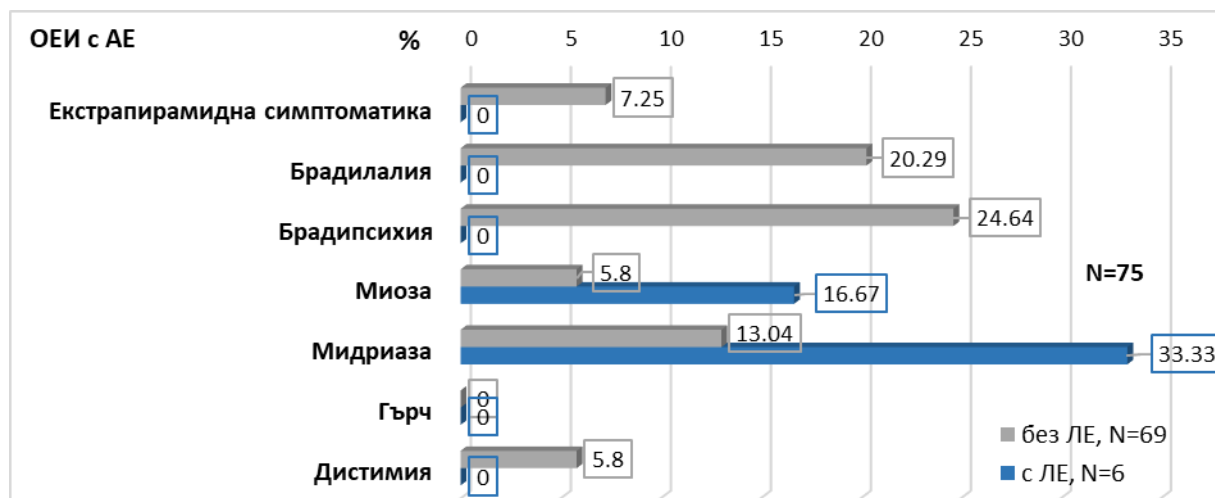
❖ Симптоми от страна на централната нервна система

Разпределението на пациентите с остри интоксикации с BZD и АЕ в зависимост от симптомите, проявени от страна на ЦНС, е показано на фигури 12 и 13.



Фиг. 12. Разпределение на пациентите с ЦНС симптоми при остри интоксикации с BZD (тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

При групата без ИЛЕ водещите симптоми са брадипсихия – при 52-ма пациенти и брадилалия – при 48. Миоза и мидриаза са регистрирани, съответно при 15 и 9 пациенти, дистимия – при 7, а при 2-ма е наблюдавана екстрапирамидна симптоматика. ИЛЕ е приложена при пациенти с анамнеза за прием на много висока доза, като 3-ма от тях са с миоза и 2-ма с брадилалия, 1 пациент е с екстрапирамидна симптоматика и 1 – с мидриаза.

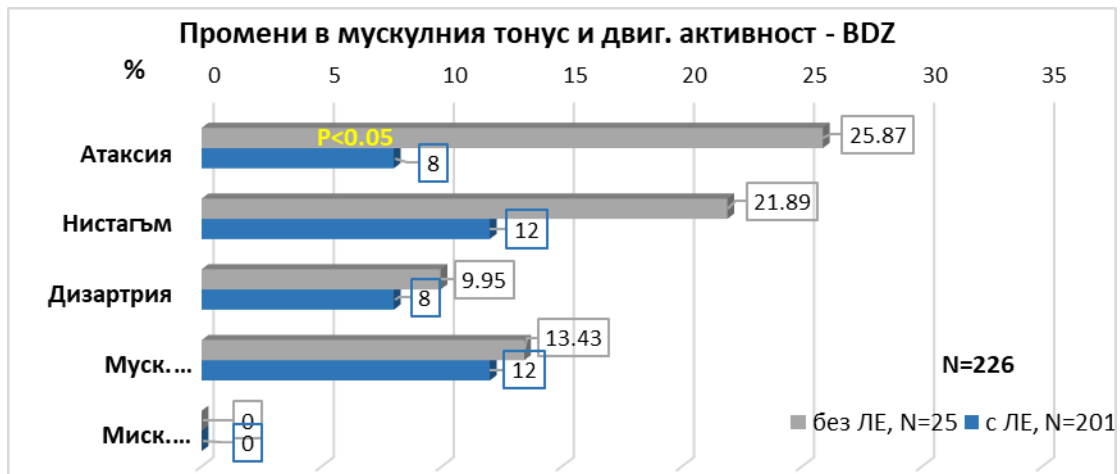


Фиг. 13. Разпределение на пациентите с ЦНС симптоми при остри интоксикации с АЕ (тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

При групата с ОЕИ с антиепилептици, които са лекувани без ИЛЕ, водещите симптоми също са брадипсихия (17) и брадилалия (14). Мидриаза е наблюдавана при 9 от тях, екстрапирамидна симптоматика – при 5-ма. 4-ма болни са с миоза и също толкова – с дистимия. ИЛЕ е приложена при 4-ма пациенти с анамнестични данни за прием на много висока доза, като 2-ма са с мидриаза и 2-ма с миоза.

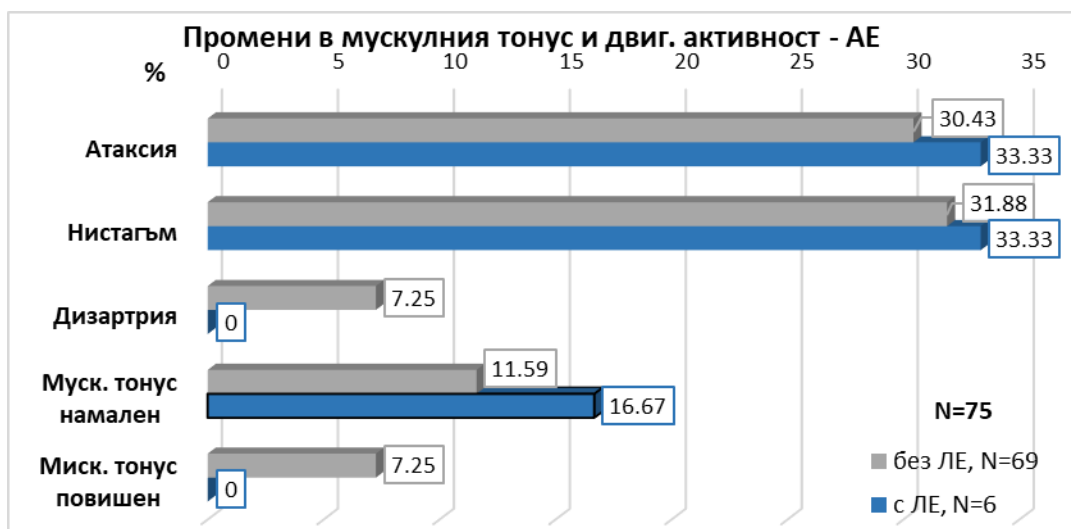
❖ Симптоми от страна на периферната нервна система

На фигури 14 и 15 са представени симптомите от страна на периферната нервна система при пациентите с ОЕИ, резултат от прием на медикаменти от двете изследвани групи.



Фиг. 14. Промени в мускулния тонус и двигателната активност при пациентите с ОЕИ с BZD

Водещ симптом от страна на периферната нервна система е атаксията, която засяга 52-ма пациенти. Нистагъм е отчетен при 44 пациенти, дизартрия – при 20. С намален мускулен тонус са 27 болни. ИЛЕ е включена при 10 пациенти с анамнеза за прием на голяма доза и с промени в двигателната активност и мускулния тонус, при 3-ма с нистагъм и намален мускулен тонус и при 2-ма – с нистагъм и дизартрия.



Фиг. 15. Промени в мускулния тонус и двигателната активност при пациентите с ОЕИ с АЕ

При групата без ИЛЕ, водещи симптоми са нистагъм (22-ма пациенти) и атаксия (21). С намален мускулен тонус са 8 пациенти, а с повишен – 5-ма. Също толкова (5) са пациентите с дизартрия. По 2-ма болни с нистагъм и атаксия, и 1 с намален мускулен тонус получават ИЛЕ в допълнение към стандартното лечение.

Известно е, че ЦНС-токсичността, предизвикана от антиепилептици, може да доведе до увреждане на церебелума, проявяващо се с церебеларна атрофия. Yagamalle и сътр. (2017) докладват суициден опит чрез поглъщане на 100 таблетки Phenytoin по 100 mg (общо 10 g) и 15 таблетки от 200 mg (3 g) Sodium valproate. 28-годишната *пациентка* е приета 10 h след приема на двете лекарства, като преди това в местната болница е извършена стомашна промивка. По време на приема тя е в съзнание, наблюдават се **нистагъм**, диплопия и неконтролируема реч. Електрокардиограмата показва удължен QTc интервал (580 msec). Нивата на серумен Phenytoin, амоняк и Sodium valproate са, съответно > 100 µg/mL, 40 mmol/L и 1.4 µg/ml. Преместена е в отделение за интензивно лечение, където състоянието ѝ, характеризиращо се със замаяност и раздразнителност, се запазва в продължение на 6 часа. Проявите на кардиотоксичност са лекувани чрез инфузия с ИЛЕ, а във връзка с ниските стойности по GCS пациентката е интубирана и подложена на командно дишане. Концентрацията на серумен амоняк се увеличава до 56 mmol/L, а на серумен Phenytoin се понижава до 33.70 µg/mL. Перкутанна трахеостомия е извършена на 8-я ден с оглед на неврологичния статус и продължителната изкуствена вентилация. ЯМР на мозъка показва обща церебрална дисфункция на ЕЕГ. Нивата на серумен Phenytoin на 9-я ден от приема се увеличават до 50.9 µg/mL, пациентката остава раздразнителна и не се подчинява на команди; развива сърдечен арест и хипотермия. Поради прогресивно влошаване на състоянието, в опит да се понижат нивата на Phenytoin, е назначена плазмафереза, при което концентрацията на медикамента намалява до 27.3 µg/mL. Ден след сърдечния арест болната показва спонтанно отваряне на очите **с постоянен нистагъм**. На 21-я ден стойността на Phenytoin в плазмата е 8.2 µg/mL. Според авторите атаксична походка, нистагъм и увреден психически статус са ранните признаци на отравяне, проявени при докладвания от тях случай на смесена интоксикация с антиепилептици. При плазмени нива на Phenytoin 30 ÷ 40 µg/mL се развиват атаксия, гадене и

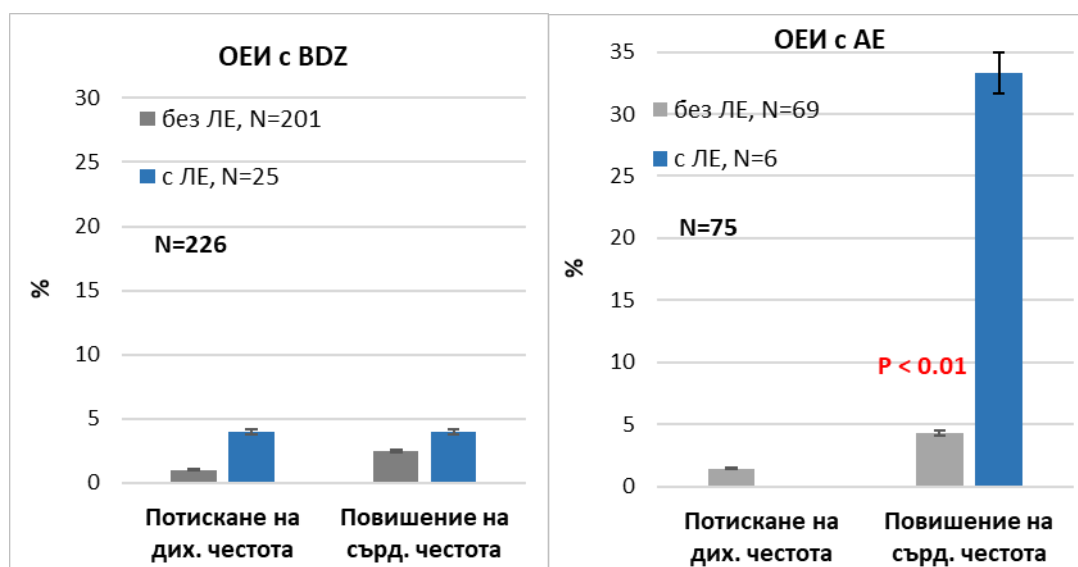
повръщане, увреждане на речта; при $40 \div 50 \mu\text{g/mL}$ симптомите включват объркване и летаргия, а при по-високи концентрации – гърчове и кома.

Анализът на данните от извършеното от нас проучване, потвърдени от разгледания клиничен случай, показва, че голямата част от пациентите с ОЕИ с АЕ, при които са проявени атаксия, нистагъм и понижен мускулен тонус, са лекувани с ИЛЕ.

Същите симптоми, проявени при пациентите с ОЕИ с ВЗД, не насочват към необходимостта за включване на ИЛЕ в лечебната схема, което може да се обясни с характерните фармакологични и токсикологични особености на бензодиазепините (голяма терапевтична ширина и по-нисък риск за живота при предозиране). Вероятно при по-голямата част от тези пациенти водещ фактор в преценката на лекуващия лекар за приложение на ИЛЕ е анамнезата за прием на голяма доза, а също наличието и типа на съпътстващи заболявания. Лечение с липидна емулсия е приложено при болни с промени в двигателната активност и мускулния тонус и наличие на нистагъм и дизартрия.

❖ Промени в дихателната и сърдечната честота

На фигури 16 и 17 са показани промените в двете вегетативни функции – дихателната и сърдечната честота при пациентите с ОЕИ с медикаментите от групите ВЗД и АЕ.



Фиг. 16 и 17. Промени в сърдечната и дихателната честота при пациентите с остри медикаментозни интоксикации (тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсон)

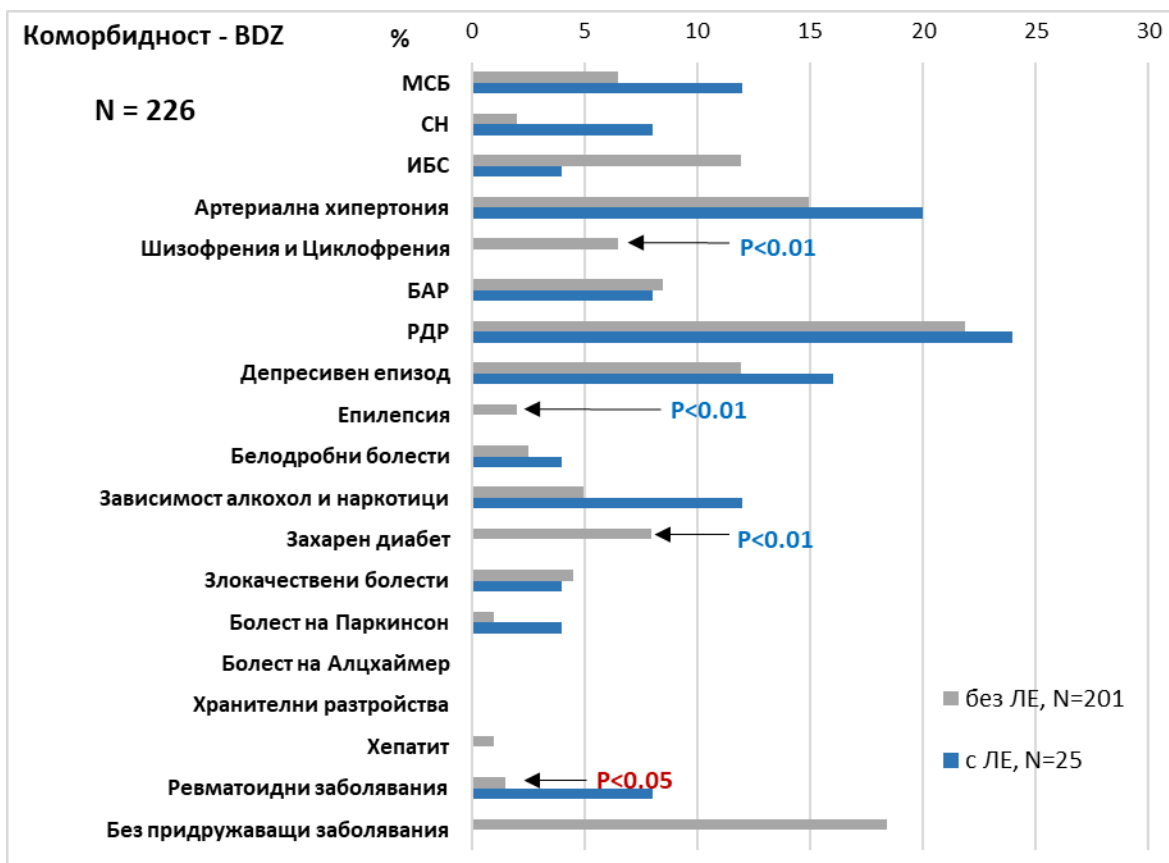
Промяна в сърдечната и дихателната честота при ОЕИ с ВЗД е регистрирана в единични случаи, както при групата пациенти, получили стандартното лечение (без ИЛЕ), така и в групата с включена ИЛЕ в терапевтичната схема.

При пациентите с ОЕИ с АЕ, подложени на терапия с ИЛЕ, не се наблюдава понижение в дихателната честота. Причината за регистрираната висока сърдечна честота при тях, в сравнение с лекуваните без ИЛЕ ($P < 0.01$), е тежката интоксикация, проявена със симптоматика, не само от страна на ЦНС, но и от страна на сърдечно-съдовата система с прояви на артериална хипотония и тахикардия.

1.1.4. Съпътстващи заболявания и усложнения в хода на терапията

❖ Коморбидност

На фигури 18 и 19 са показани съпътстващите заболявания при пациентите с ОЕИ с медикаменти от групите BZD и АЕ.

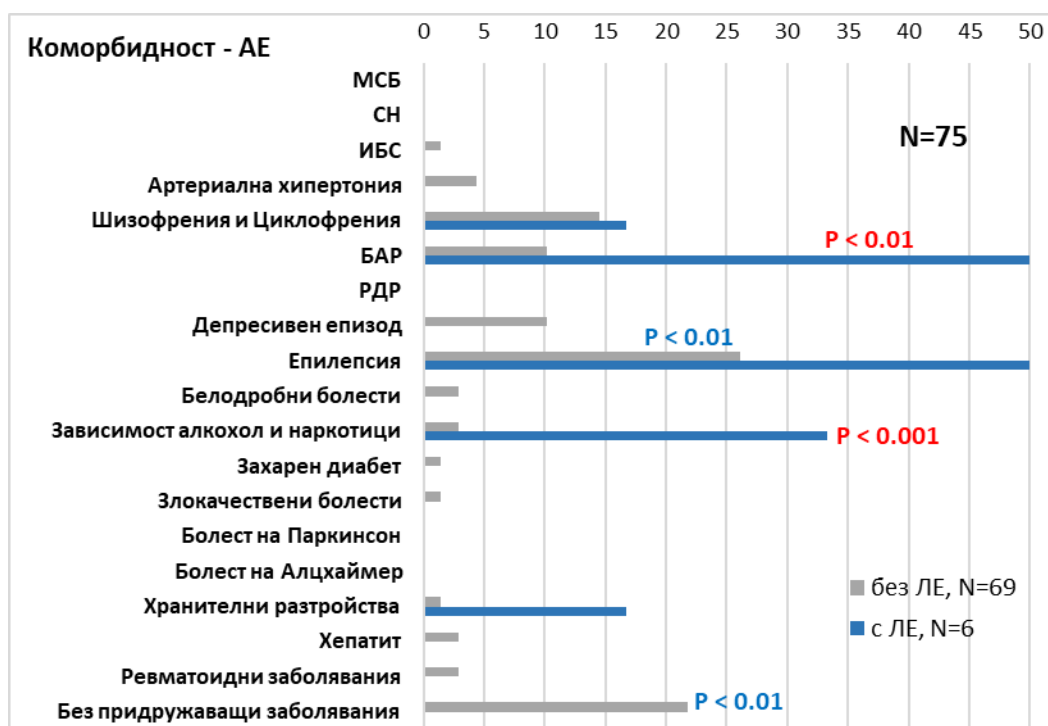


*БАР – биполарно афективно разстройство; **РДР – рекурентно депресивно разстройство

Фиг. 18. Коморбидност при пациентите с остри интоксикации с BZD

(Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън – в червено; t-критерий на Стюдент при предполагаемо нормално разпределение – в синьо)

Резултатите показват, че при остри интоксикации с BZD и съпътстващи заболявания от страна на ССС, като мозъчно-съдова болест (МСБ), сърдечна недостатъчност (СН), артериална хипертония, при депресия, наркотична и/или алкохолна зависимост, както и паркинсонизъм, преобладават случаите, при които в терапевичната схема е включена ИЛЕ.



*БАР – биполарно афективно разстройство; **РДР – рекурентно депресивно разстройство

Фиг. 19. Коморбидност при пациентите с остри интоксикации с АЕ
(Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън)

При интоксикация с АЕ, определящи приложението на ИЛЕ, са заболявания като епилепсия, БАР, хранителни разстройства, а също зависимост към алкохол и/или наркотични вещества.

ИЛЕ е приложена при най-висок процент пациенти със съпътстващо биполарно афективно разстройство – 50 % спрямо групата, лекувана без ИЛЕ ($P < 0.01$) и епилепсия (50 %), следвани от зависимости към различни вещества (33.3 %) ($P < 0.01$ спрямо групата, лекувана без ИЛЕ), шизофрения и циклофрения, както и хранителни разстройства (16.67 %). Тук е важно да се подчертае, че водеща причина за включване на ИЛЕ в терапевтичната схема са основно тежестта на клиничната симптоматика и/или анамнестичните данни за количеството погълнати таблетки. Вида и тежестта на придружаващото, в случая заболяване, не е пределящо условие.

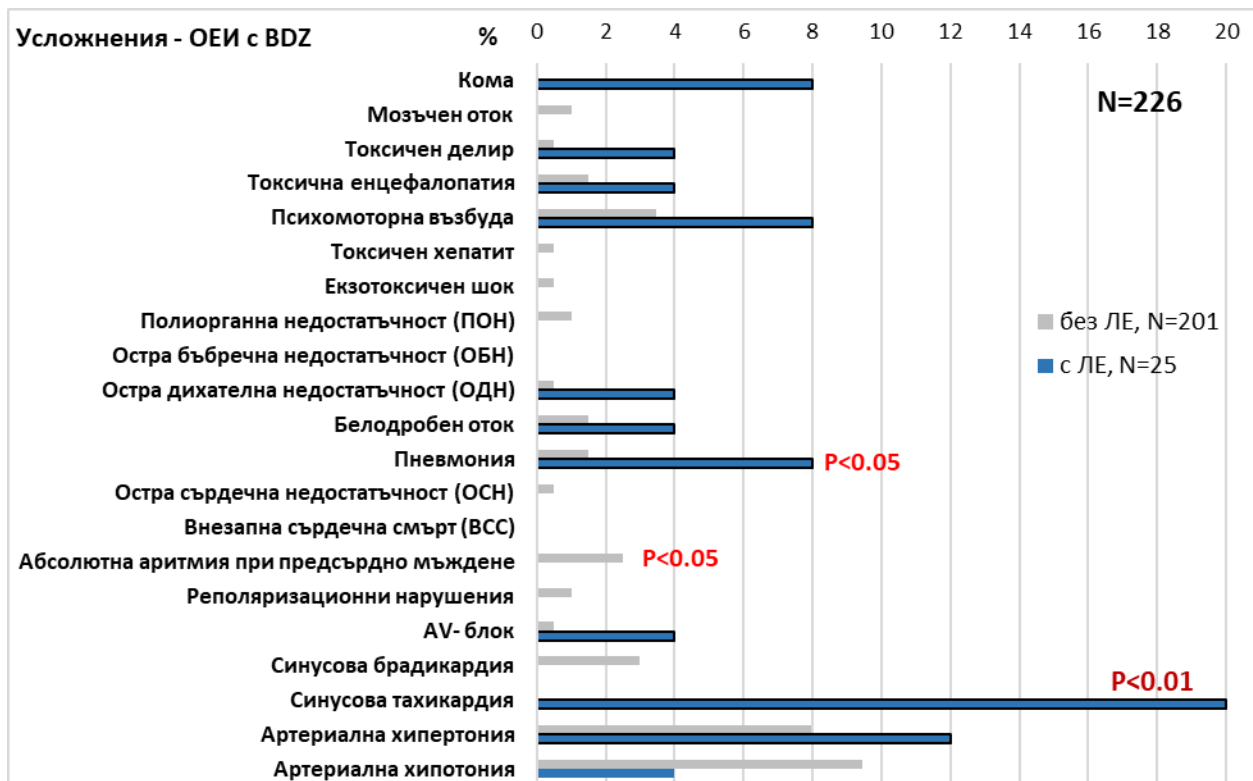
През 2012 г. Мооге и сътрудници докладват първия случай с прилагане на ЛЕ за повлияване на тежките неврологични симптоми при остра интоксикация с Lamotrigine при хора. Касае се за 23-годишен мъж, погълнал със суицидна цел около 13 g Lamotrigine и 18 g Fludrocortisone (назначената му преди това терапия включва 150 mg Lamotrigine веднъж дневно и 0.1 mg Fludrocortisone 2 пъти дневно). Четиридесет минути след това е открит с тремор и пяна на устата. Медицинската история на мъжа включва като коморбидност **биполарно разстройство с повтарящи се опити за самоубийство**, синдром на постурална ортостатична тахикардия, синдром на Ehlers-Danlos и отдалечена плантарна операция на фасция. Няма данни за употреба на тютюн, наркотици или алкохол. Пациентът е с GSC стойност 8, не реагира на дразнение, проявява агресивно поведение с блъскане главата и крайниците си. След назначаване на Lorazepam (2 mg) заради генерализиран миоклонус, е приет в интензивното отделение. Миоклоничната активност се влошава, поради което получава многократни дози от 2 ÷ 4 mg Lorazepam интравенозно. Жизнените му показатели варират: артериалното налягане – до 170/80 mmHg, сърдечната честота

– от 90 до 110 и дихателната честота – от 25 до 36; пулсовата оксиметрия е 94 %, а температурата му достига 39.4 °С. На 3-я болничен ден са установени високи концентрации на Lamotrigine, продължаващи признаци на тежка токсичност с прояви на ажитация и безпокойство, влошаване на рабдомиолизата и постоянни промени в ЕКГ, което налага лечение с ИЛЕ – първоначално болус доза, с последваща 40-минутна инфузия. Психичният му статус се подобрява, възбудата и безпокойството се понижават (по оценъчната скалата на Riker, коефициентът за измерване на възбудата намалява от 6 на 3). 30 минути след прилагането на ИЛЕ пациентът е с коефициент на възбуда по Riker 2, понижение на сатурацията до около 80, като състоянието му се подобрява допълнително след доза Flumazenil. Три часа по-късно се стабилизират сърдечните показатели. На следващия ден пациентът реагира на името си и изпълнява команди, с прояви на тревожност, овладявани с Haloperidol и Lorazepam. На 5-я ден, той води разговор, но остава дезориентиран за време и място, с промени в походката. На 7-я ден след овладяване на интоксикацията, е пренасочен към психиатрично отделение.

Нашиите резултати и разгледаният клиничен случай потвърждават антидотния ефект на ИЛЕ при остри интоксикации с антиепилептични лекарствени продукти, проявяващи невротоксично действие.

❖ Усложнения в хода на терапията

Разпределението на пациентите с ОЕИ с изследваните групи медикаменти, в зависимост от настъпили усложнения в хода на терапията, е представено на фигури 20 и 21.

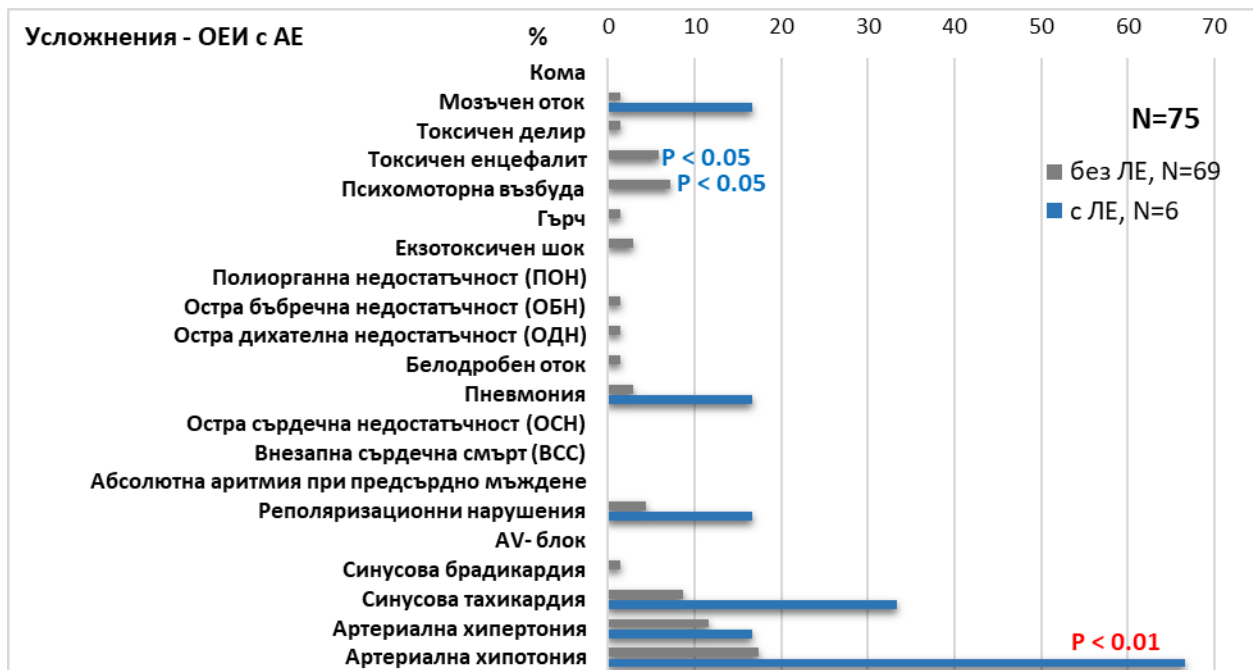


Фиг. 20. Усложнения при пациентите с ОЕИ с BZD

(Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън)

Анализът на данните показва, че стандартното лечение на остри интоксикации с BZD, без приложение на мастна емулсия, се свързва най-често с усложнения от страна на ССС – артериална хипотония или хипертония, синусова брадикардия, абсолютна аритмия с предсърдно мъждене и от страна на ЦНС – кома и психомоторна възбуда.

По преценка на лекуващия лекар ИЛЕ е приложена при пациенти със свързани с ЦНС усложнения (кома при 2-ма и психомоторна възбуда при 2-ма, токсичен делир при 1 и токсична енцефалопатия също при 1 пациент); белодробни усложнения (при 2-ма пневмония, при 1 остра дихателна недостатъчност и при 2-ма белодробен оток); усложнения от страна на ССС (синусова тахикардия при 5-ма пациенти и артериална хипертония при 2-ма). Тези резултатите корелират добре със съпътстващите заболявания при случаите, лекувани с ИЛЕ, където преобладаващи са сърдечно-съдовите заболявания и висок процент пациенти с наркотична и алкохолна зависимост. Тук трябва се акцентира върху това, че регистрираните клинични прояви при пациентите, получили ИЛЕ, не са резултат от нейното прилагане, а се дължат на по-тежките форми на интоксикация в тази група.



Фиг. 21. Усложнения при пациентите с ОЕИ с АЕ
(Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън)

Лечението на остра интоксикация с АЕ без ИЛЕ се свързва най-често с усложнения, повлияващи някои параметри на ССС, като артериално налягане – хипотония при 12 пациенти (17.4 %) или хипертония – при 8 (11.59 %), синусова тахикардия при 6 (8.7 %); психомоторна възбуда при 5 (7.25 %) и токсична енцефалопатия при 4 (5.8 %).

В случаите, при които по преценка на лекуващия лекар, е приложена мастна емулсия, регистрираните усложнения са както следва: при 4-ма пациенти – артериална хипотония (P < 0.01 в сравнение с групата, лекувана без ИЛЕ), при 1 – хипертония, синусова тахикардия при 2-ма и

реполяризационни нарушения при 1. При 1 от пациентите, усложнението е пневмония и при 1 – мозъчен оток. Настъпилите усложнения не са резултат от приложението на ИЛЕ, а се дължат, от една страна, на по-тежките форми на интоксикацията и от друга, на сериозните съпътстващи заболявания. Например 2-ма от пациентите, лекувани са ИЛЕ, имат придружаваща наркотична и алкохолна зависимост, по 3-ма – епилепсия и БАР. Тези тежки и социално значими заболявания, определящи лечението с ИЛЕ, вероятно са ключов фактор за възникването на изброените по-горе усложнения.

Castanares-Zapatero и сътр. (2012) съобщават за случай на преднамерено предозиране на Lamotrigine при 50-годишна жена, която губи съзнание и развива ЕКГ отклонения, включително удължаване на QRS-интервала с поява на ляв AV-блок. Токсичните ЕКГ промени не реагират на лечението с натриев бикарбонат. За овладяване на интоксикацията като допълнителна терапия е приложено вливане на 20 % ИЛЕ, след което е постигнато бързо възстановяване на сърдечната проводимост. Описан е друг случай при 17-годишно момиче, прието в интензивното отделение с комбинирана интоксикация след поглъщане на Quetiapine и Lamotrigine (Klučka et al., 2019). Пациентката е в ступор и реагира само на дълбоки болезнени стимули чрез неразбираеми звуци. Поради депресия на психичния статус, хипотония (70/30), тахикардия (150s) и изключително удължен QT-интервал, със загриженост за дегенерация на сърдечния ритъм (синусов ритъм – 127 удара в минута, QRS – 92ms и QT – 610ms, при норма – 462ms), е приложен *Intralipid*. Започва се с интравенозно въвеждане на 100 mL болус от 20 % ИЛЕ за 5 min, последвано от 420 mL инфузия в продължение на 1 час. В рамките на 1/2 h се постига корекция на сърдечно-съдовите компликации, в т. ч. нормализиране на QT-интервала (433ms).

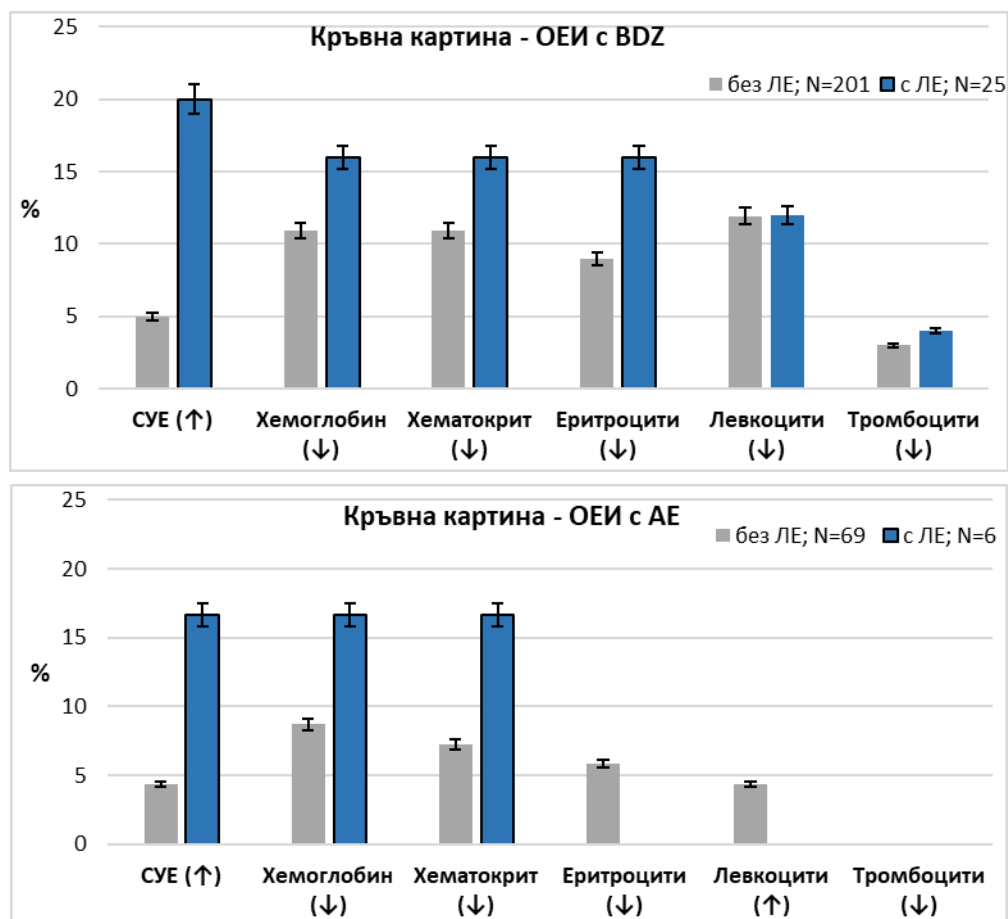
Разгледаните случаи показват кардиопротективния потенциал на ИЛЕ, без риск от сърдечно-съдови усложнения в резултат на приложението ѝ като антидот, при тежки случаи на остро отравяне с медикаменти.

В заключение, ИЛЕ е избор на клиницистите при тежки остри интоксикации, анамстични данни за прием на голяма доза и при пациенти със сериозни съпътстващи заболявания.

1.2. Анализ на измерените клинично-лабораторни показатели

❖ Хематологични показатели

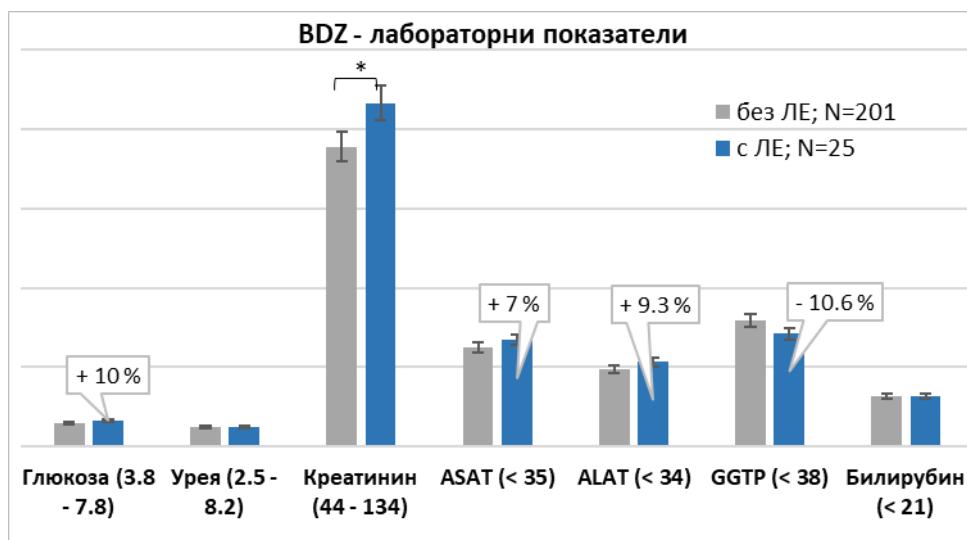
На фигури 22 и 23 са показани регистрираните промени в кръвната картина при пациентите с ОЕИ с лекарствени продукти от групите BZD и АЕ.



Фиг. 22 и 23. Промени в хематологичните показатели при пациентите с остри лекарствени интоксикации

И при двете групи пациенти с медикаментозни отравяния се наблюдава висок процент на лекуваните с ИЛЕ, при които са установени повишени стойности на СУЕ и понижени хемоглобин и хематокрит, дължащи се на индивидуалните особености при пациентите в двете групи. Влиянието на ИЛЕ е вън от съмнение, тъй като кръвта за изследване е взета при хоспитализирането, преди прилагането на ИЛЕ.

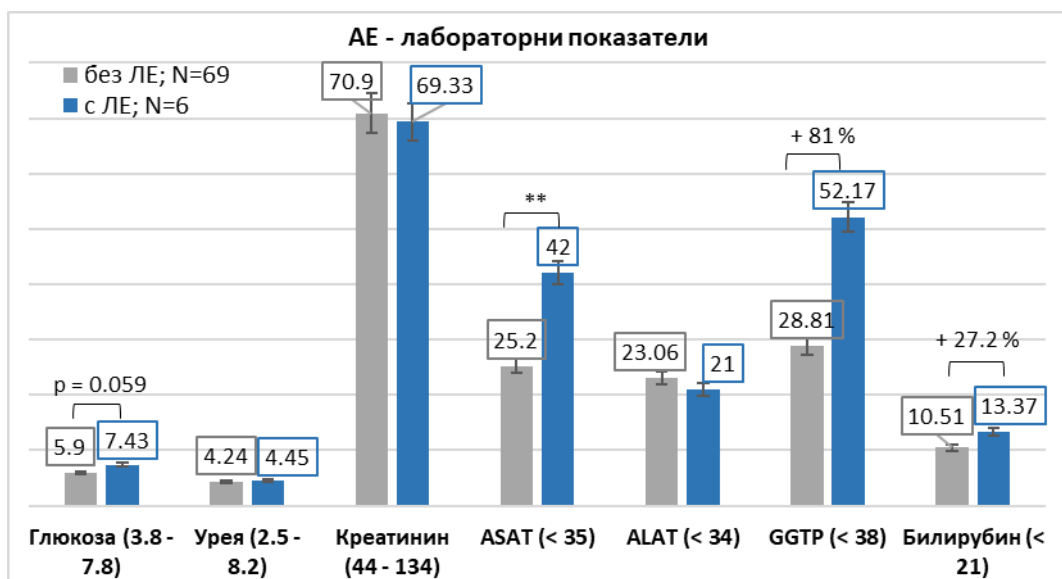
Промените в биохимичните показатели при пациентите с OEI, предизвикани от лекарствени продукти от групата BZD и АЕ, са представени на фигури 24 и 25.



Фиг. 24. Промени в стойностите на биохимичните показатели при пациентите с ОЕИ с BZD;

* $P < 0.05$ спрямо групата, лекувана без ИЛЕ

При всички проследени биохимични показатели се наблюдават около 10 % различия в стойностите между двете групи пациенти при постъпването КИЛООТ – тези лекувани впоследствие със стандартните методи и пациентите, при които е включена ИЛЕ. Най-отчетлива и статически достоверна е разликата в измерените концентрации на креатинина в плазмата, които са по-високи при пациентите с приложена ЛЕ, в сравнение с нивата при лекуваните по стандартната схема ($P < 0.05$). Според нас това се дължи на тежестта на интоксикацията и свързаното с нея състояние на отделителната система, при пациентите, при които е приложена ИЛЕ.



Фиг. 25. Промени в стойностите на биохимичните показатели при пациентите с ОЕИ с АЕ;

** $P < 0.01$ спрямо групата, лекувана без ИЛЕ

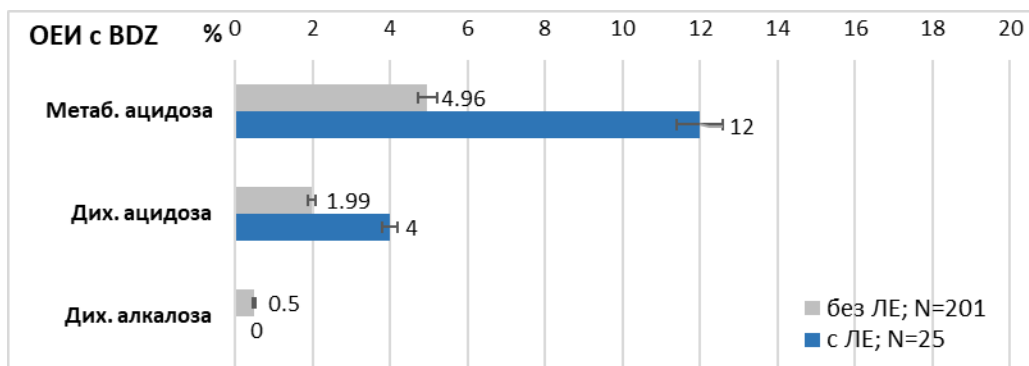
Стойностите на кръвната захар, която е показател за обща токсичност и при двете групи пациенти са в референтния интервал. Бъбречната функция не е съществено повлияна от медикаментите според биохимичните изследвания – концентрациите на урея и креатинин са в референтните граници и също не се различават в двете групи пациенти. В границите на референтните стойности са и нивата на билирубина.

Анализът на данните от биохимичните изследвания показва, че не се наблюдават съществени отклонения в изследваните показатели в групата без ИЛЕ и тази с приложена ИЛЕ. Установените разлики по отношение активността на чернодробните трансминази ASAT и GGT се дължат на индивидуалните особености на пациентите, техните придружаващи заболявания, злоупотребата с алкохол и не са резултат от прилагането на ИЛЕ. Стойностите на ALAT - индикатор за чернодробно увреждане при пациентите и от двете групи са в референтния интервал.

Във връзка с различната степен на повлияване нивата на чернодробните трансминази в зависимост от съпътстващите заболявания и възрастта на пациента, Coude и сътр. (1981) установяват, че хиперамонемията – усложнение при интоксикация с валпроати, възниква по два възможни механизма. Първият от тях, който обикновено се наблюдава при млади хора с неврологично заболяване, се дължи на идиосинкратична реакция, причиняваща чернодробно увреждане. Вторият механизъм е резултат от инхибиране на ензимите от цикъла на уреята при пациенти с нормални чернодробни функции и без манифестирана хепатотоксичност. Наблюдаваната от тях сънливост при пациента, обект на проучването, обясняват с високи нива на серумен амоняк (Coude et al., 1981). Според Yargamalle и сътр. (2017) високите стойности на амоняка в кръвта не корелират с концентрацията на Valproic acid. Има съобщения, че предозирането със Sodium valproate обвити таблетки може да доведе до забавена токсичност (Pons et al., 2012).

❖ Метаболитни изменения

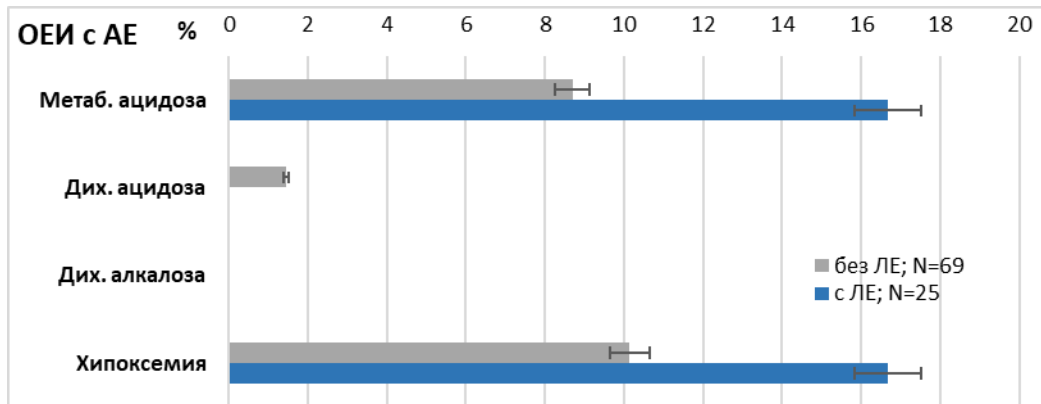
Метаболитните изменения при пациентите с ОЕИ, предизвикани от лекарствени продукти от групите BZD и АЕ са илюстрирани на фигури 26 и 27.



Фиг. 26. Метаболитни изменения при пациентите с ОЕИ с BZD

Потвърждението за позитивните ефекти от включването на ИЛЕ към стандартната антидотна терапия при отравяне с BDZ, се демонстрира от случай на комбинирана интоксикация, включваща

бензодиазепини, повлияна от приложението на ИЛЕ (Ott и Bailie, 2010). 34-годишен мъж е приел свръх комбинация от високи дози липоразтворими лекарства (140 mg Diazepam, 120 mg Temazepam, 240 mg Citalopram, неизвестно количество Perindopril, Doxazosin, Amlodipine и комбиниран медикамент, съдържащ Codeine и Paracetamol) и още 500 mL антифриз. При приемането му той е с хипотония (68/42 mm Hg) и тахикардия (126 удара/минута), GCS стойността е 5, не отваря очи при стимули, не говори или произнася нечленоразделни звуци, с абнормна мускулна флексия. След инфузиране на разтвор на натриев хидрогенкарбонат, пациентът остава хипотоничен (69/32 mm Hg), хипоксичен и в безсъзнание (стойността по GCS спада до 3), поради което е интубиран. Нивото на лактат се повишава (14.4 mmol/L), частично компенсиранията **метаболична ацидоза** прогресира и количеството отделена урина е гранично. Пациентът не реагира на стандартната терапия, включваща прилагането и на етанол (антидот на погълнатия с антифриза етиленгликол), но се подобрява след въвеждането на *Intralipid*. Тридесет минути след болус инжектирането на ИЛЕ, GCS-стойността се повишава с произтичащото от това агресивно поведение. Продължава се приложението на разтвор на натриев хидрогенкарбонат и на етанол. Пациентът е екстубиран на 3-я ден, а на 12-я е изписан с възстановени неврологичен статус и ренална функция.



Фиг. 27. Метаболитни изменения при пациентите с ОЕИ с АЕ

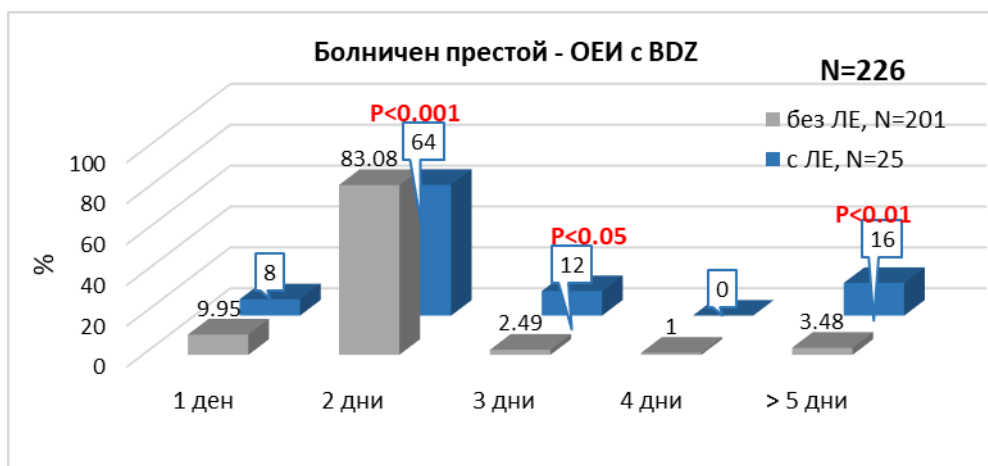
Нашите резултати показват, че характерни за острите форми на интоксикация са по-значимите метаболитни отклонения, като изразена хипоксемия, метаболитна и дихателна ацидоза. По-високата им честота в групата с ИЛЕ се дължи на по-тежките интоксикации при тези пациенти.

В заключение промените в клинично-лабораторните параметри, не са определящи решението на лекуващия лекар за включване на ИЛЕ в терапевтичната схема, от една страна и от друга, ИЛЕ не повлиява негативно лабораторните показатели.

1.3. Продължителност на болничния престой и леталитет при пациентите

❖ Болничен престой

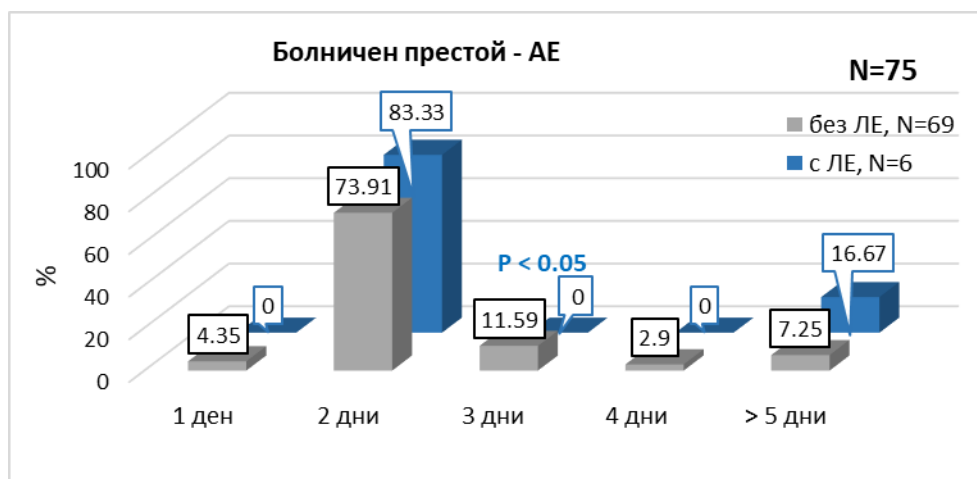
Ефективността на ИЛЕ чрез проследяване продължителността на болничния престой при пациентите с остри медикаментозни интоксикации е илюстрирана на фигури 28 и 29.



Фиг. 28. Разпределение на пациентите с ОЕИ с BZD според продължителността на болничния престой (Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън)

При ОЕИ с BZD се наблюдава по-висок брой изписани от клиниката на 3-тия ден пациенти, лекувани с ИЛЕ, в процентно съотношение 6:1 спрямо групата без ИЛЕ. Подобно е разпределението и в периода след 4-я ден – 16 % са болните, при които е приложена ИЛЕ и 3.48 % – пациентите без ИЛЕ. На 2-я ден изписаните пациенти без лечение с ИЛЕ, са с 20 пункта повече от тези, лекувани с мастна емулсия, което се свързва с тежестта на интоксикацията и повлияването от стандартната терапия.

Болничният престой при пациентите от групата без ИЛЕ е средно 2.11 дни, а при тези с включена в лечебната схема ИЛЕ – 2.6 дни, с гранично достоверна разлика между тях ($P=0.070034$), което обаче не е във връзка с използването на мастната емулсия. По-продължителният болничен престой в групата с ИЛЕ се дължи на прилагането ѝ при най-тежките форми на интоксикация и при прием на по-голяма доза от медикамента.



Фиг. 29. Разпределение на пациентите с ОЕИ с АЕ според продължителността на болничния престой (t-тест на Стюdent)

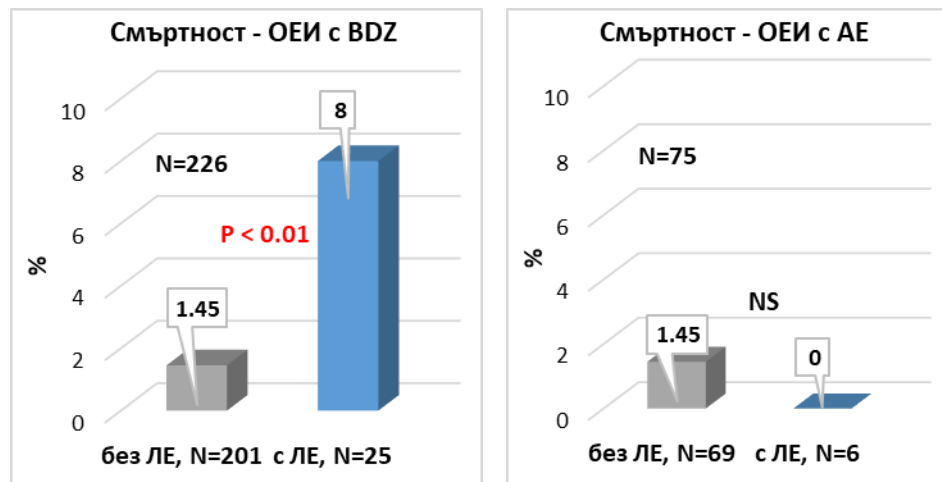
При ОЕИ с АЕ изписаните на 2-я ден пациенти, лекувани с мастна емулсия, са с 10 пункта повече от тези с приложената стандартна терапия (без ИЛЕ), съответно – 83.3 % и 73.9 %.

Болничният престой на пациентите от групата без ИЛЕ е средно 2.51 дни, на тези с приложена ИЛЕ – 3.5 дни, при отсъствие на достоверна разлика.

Данните насочват към извода, че приложението на ИЛЕ при остра интоксикация с АЕ ускорява възстановяването и по-голямата част (83.33 %) от пациентите напускат клиниката на 2-я ден.

❖ Смъртност

Резултатите за терапевтичната ефективност на ИЛЕ, получени чрез проследяване на леталитета са представена на фигури 30 и 31.



Фиг. 30 и 31. Смъртност при пациентите с остри медикаментозни интоксикации
(Тест за хомогенност Хи-квадрат на Пирсън)

Отчитането на фактора „смъртност“ потвърждава резултатите, които показват по-високата ефективност на ИЛЕ при ОЕИ с АЕ, в сравнение с BZD. Тук отново следва да се подчертае, че ИЛЕ се прилага при най-тежките форми на интоксикация, както и това, че за изхода от лечението, от особено значение са вида и тежестта на съпътстващите заболявания, които често пъти са повече от едно.

2. Остри екзогенни интоксикации с пестициди

2.1. Анализ на основните демографски и клинични данни, вписани в медицинската документация на пациентите

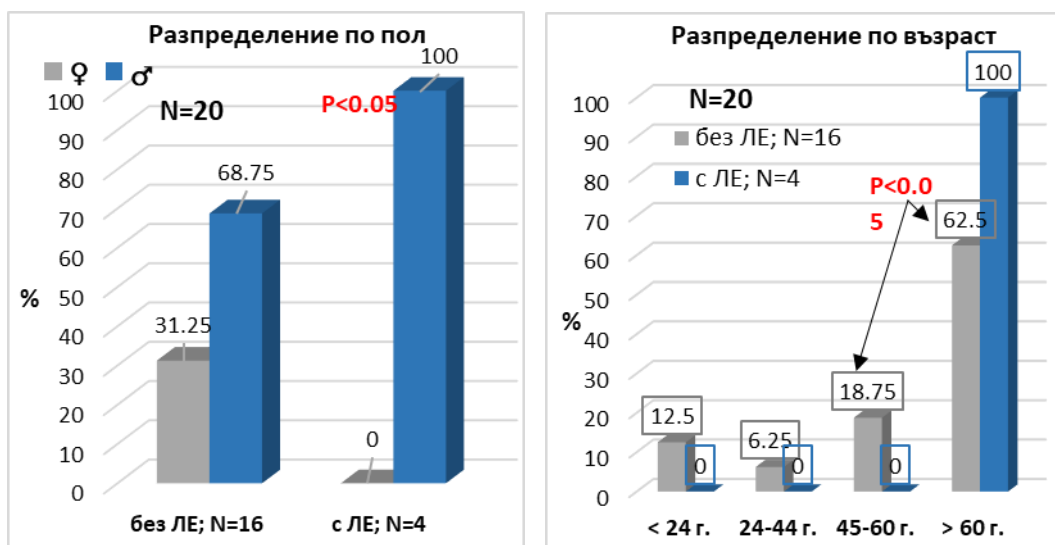
На таблица 6 са показани ОЕИ с пестициди, в т. ч. органофосфорни, при пациентите, лекувани в КИЛООТ през периода 2010 ÷ 2020 г.

Табл. 2. Остри екзогенни отоксикации с пестициди през проучвания период

Година	без ЛЕ (n = 16)	с ЛЕ (n =4)	Общо (n = 20)
2010	0	0	0
2011	1	0	1
2012	0	0	0
2013	1	0	1
2014	2	0	2
2015	1	0	1
2016	0	1	1
2017	1	1	2
2018	1	1	2
2019	2	1	3
2020	7	0	7
Общо:	16	4	20

2.1.1. Пол и възраст

На фигури 32 и 33 е представено разпределението на изследваните пациенти с ОЕИ с пестициди по пол и възраст.



Фиг. 32 и 33. Разпределение на пациентите с ОЕИ с пестициди по пол и възраст (тест Хи-квадрат на Спирмен)

За разлика от пациентите с остри медикаментозни интоксикации, където честотата при жените е 3-кратно по-висока, тук преобладаващ е мъжкият пол.

Жените в групата без ИЛЕ са 5 (31.25 %), мъжете – 11 (68.75 %). Пациентите с приложена към лечението ИЛЕ (4) са мъже (100 %). Или при този вид интоксикации, честотата при мъжете – 15 души (75 %) е 3 пъти по-висока, в сравнение с тази при жените, които са 5 (25 %) ($P < 0.05$). Вероятното обяснение е по-високата активност на мъжкия пол по отношение употребата на пестициди в стопанството и в бита, респективно достъпа до тези продукти.

Всички пациенти са разпределени в 4 възрастови групи. Тези в групата до 24 години, при които не е използвана ИЛЕ, са 2-ма (12.5 %), в групата 25 ÷ 44 г. – 1 (6.25 %), в групата 54 ÷ 60 г. – 3-ма (18.75 %) и в групата над 60 г. – 10 (62.5 %).

Лекуваните с ИЛЕ 4-ма пациенти са от възрастовата група > 60 г.

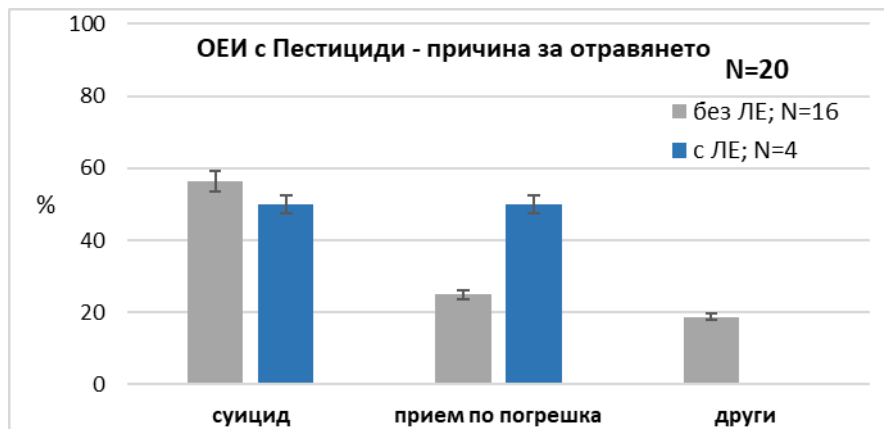
Средната възраст на групата без ИЛЕ е 60.25 години, а на групата с приложена ИЛЕ – 70 години.

От всички случаи на отравяния с пестициди едва 15 % са при хора на възраст до 45 години, а 85 % – при такива на възраст > 45 години ($P < 0.001$).

2.1.2. Причина за възникване на острата интоксикация и вид на токсичната нокса

❖ Причина за ОЕИ

Анализът на причината за ОЕИ с пестициди е представен на фигура 34.



Фиг. 34. Разпределение на пациентите в зависимост от причината за възникването на ОЕИ

Отравянето при 9 пациенти от групата без ИЛЕ (56.25 %) е резултат от опит за самоубийство. В групата с приложена ИЛЕ, суицидните инциденти са при 4-ма пациенти (50 %), като процентното съотношение е близко до това при групата без ИЛЕ. При пестицидните интоксикации 15 са случаите на суициден опит, което представлява 55 % от общия брой. Прием по погрешка е причина за остро отравяне при 6 души (30 %) от всички случаи – 4 в групата без ИЛЕ (25 %) и 2 – с ИЛЕ (50 %).

При 3-ма пациенти (18.75 %) в групата, лекувани без ИЛЕ, причината за отравянето е консумация на контаминирана с пестициди храна.

❖ Вид на токсичната нокса

На фигура 35 е представено разпределението на ОЕИ, в зависимост от вида на пестицида.



Фиг. 35. Разпределение на пациентите с ОЕИ в зависимост от вида на токсичния агент
(тест Хи-квадрат на Спирмен)

Анализът на данните показва, че от всички ОЕИ с пестициди, 45 % са резултат от прием на органофосфати (9 пациенти); 40 % – от синтетични пиретроиди (8), които през последните години са широко използвани не само като високоефективни инсектициди, но и в потребителски продукти за домашни цели; 5 % – от смесена интоксикация (пиретроид и ОФ) (1 пациент). Бромациолон е причина за 10 % от отравянията (при 2-ма пациенти). Представява мощен антикоагулантен родентицид, второ поколение 4-хидроксикумариново производно и антагонист на витамин К, често наричан „супер-варфарин“ заради добавената си сила и склонността да се натрупва в черния дроб на отровения организъм. Особено ефективен е срещу популации от гризачи (плъхове и мишки), които са придобили устойчивост спрямо антикоагуланти от първо поколение. Класифициран е като изключително опасно вещество в САЩ (<https://www.govinfo.gov/app/details/CFR-2011-title40-vol28/CFR-2011-title40-vol28-part355-appA>).

Органофосфатният инсектицид *диметоат* е причина за 88.89 % от ОЕИ с ФОП (8 от 10 пациенти).

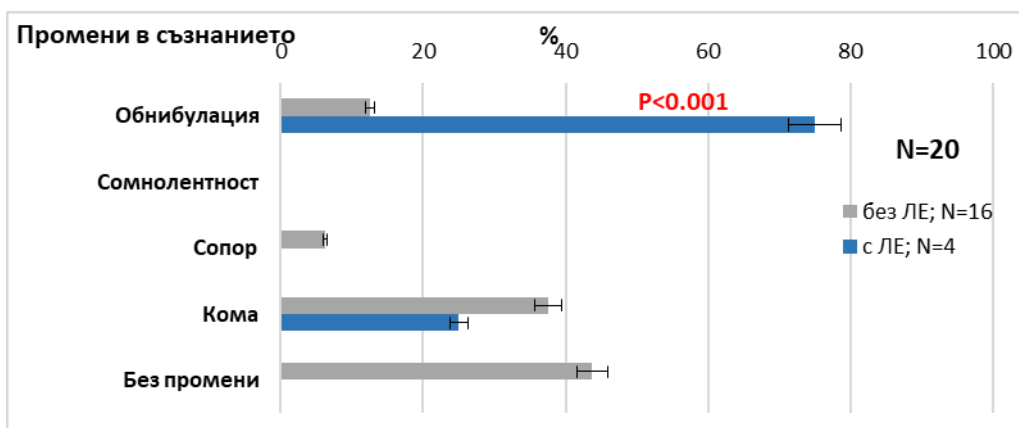
ИЛЕ, в качеството ѝ на антидот, е използвана за лечение при 2-ма пациенти с остри отравяния с *диметоат*, при 1 – с *фенитротрион* (*Агрива 1050*) и при 1 – с комбинацията *циперметрин* и *хлорпирифос етил* (пиретроид и ОФ).

При останалите 16 пациенти е приложена само стандартната реанимационна и детоксично-депурационна терапия.

2.1.3. Клинични прояви

❖ Промени в съзнанието

Промените в съзнанието са показани на фигура 36.



Фиг. 36. Промени в съзнанието при пациентите с ОЕИ с пестициди
(тест Хи-квадрат на Спирмен)

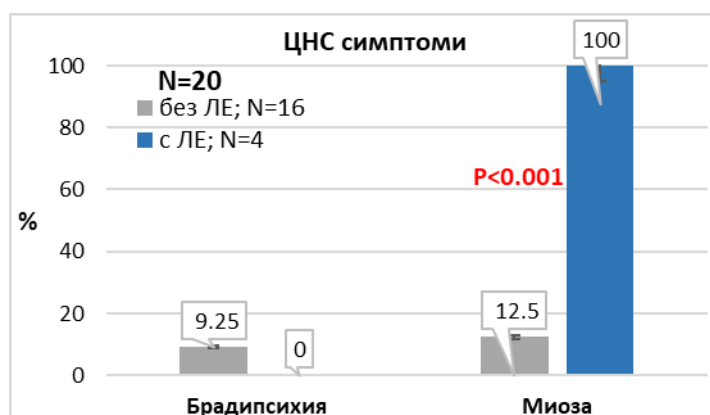
В групата без ИЛЕ, 2-ма пациенти (12.5 %) са с обнибулация, 1 – със сопор (6.25 %) и 6 (37.5 %) – в кома. Без отчетени промени в съзнанието са 7 (43.75 %).

Лечение с ИЛЕ е приложено при 3-ма пациенти с обнибулация ($P < 0.001$ спрямо групата, лекувани без ИЛЕ) и при 1 болен в кома.

Обнибулацията е най-леката степен на потискане на съзнанието в количествен аспект и сама по себе си не е индикация за прилагане на ИЛЕ. При тези пациенти потискането на съзнанието е съпроводено и с анамнестични данни за поглъщане на голяма доза пестицид, което налага венозно включване на ЛЕ в лечебната схема.

❖ Симптоми от страна на централната нервна система

Разпределението на пациентите с ЦНС симптоми при ОЕИ с пестициди е представено на фигура 37.



Фиг. 37. Разпределение на пациентите с ЦНС симптоми при ОЕИ с пестициди
(тест Хи-квадрат на Спирмен)

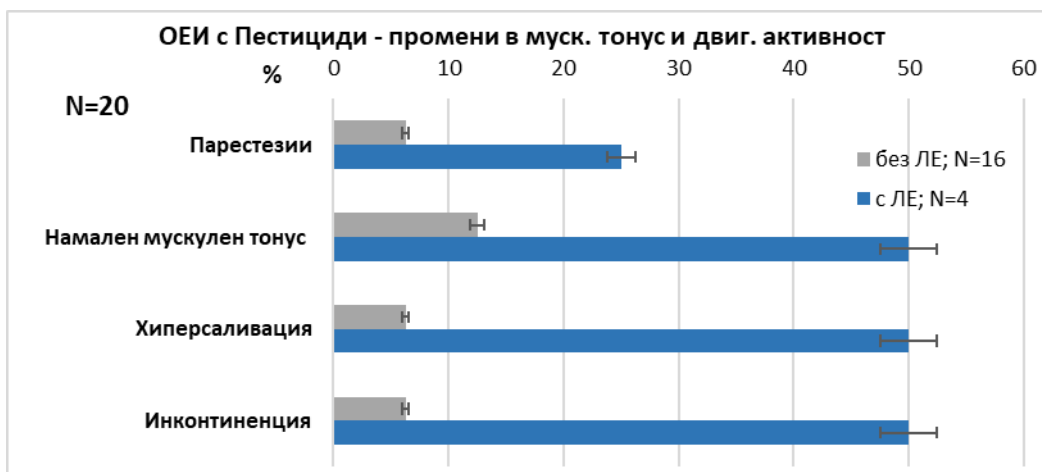
При всички 4 случая с приложена ИЛЕ, се касае за пациенти с остро органофосфатно отравяне, проявено с миоза ($P < 0.001$ в сравнение с пациентите, лекувани без ИЛЕ).

Миоза, която е характерен токсидром за този вид остри интоксикации, резултат от инхибирането на ChE, е установена при почти всички пациенти, независимо от тежестта на интоксикацията. Липсата на миоза при част от тях се дължи на прилагането на атропин като антидот в доболничната помощ. Наличието само на миоза не е индикация за прилагане на ИЛЕ.

При органофосфатните, както и при медикаментозните отравяния, ИЛЕ се прилага при анамнеза за прием на голяма доза и/или при наличие на тежка клинична картина. Дори ниските стойности на плазмената ChE не са самостоятелен критерий за прилагане на ИЛЕ, тъй като в голямата част от случаите липсва корелация между активността на ензима, респективно степента на инхибирането и тежестта на острата интоксикация с ФОП.

❖ Симптоми от страна на периферната нервна система

На фигура 38 са представени симптомите от страна на периферната нервна система при пациентите с ОЕИ с пестициди.



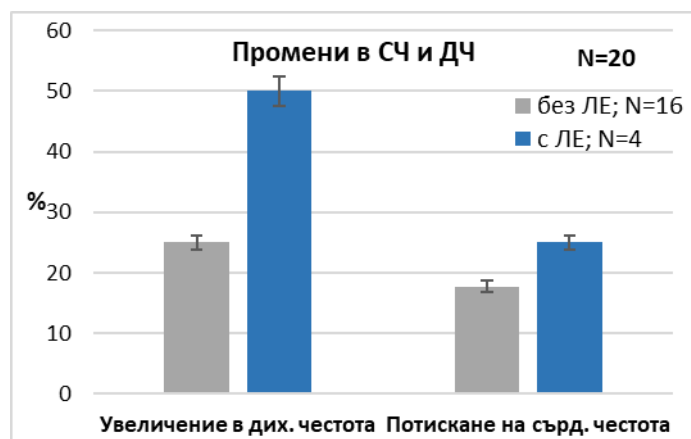
Промени в мускулния тонус и двигателна активност	Група без ИЛЕ (N=16)		Група с ИЛЕ (N=4)	
	Брой	%	Брой	%
Парестезии	1	6.25	1	25
Мускулен тонус намален	2	12.5	2	50
Хиперсаливация	1	6.25	2	50
Инконтиненция	1	6.25	2	50

Фиг. 38. Промени в мускулния тонус и двигателната активност при пациентите с ОЕИ с пестициди (група без ИЛЕ и група с приложена ИЛЕ)

По един пациент от двете групи са с парестезии, а по двама – с потиснат мускулен тонус. ИЛЕ е приложена при 2-ма от трима пациенти с хиперсаливация и с инконтиненция.

❖ Промени в дихателната и сърдечната честота

На фигура 39 са показани промените в дихателната и сърдечната честота при пациентите с ОЕИ с пестициди.



Фиг. 39. Промени в сърдечната и дихателната на пациентите с ЦНС симптоми при ОЕИ с пестициди

В групата на пациентите, при които не е използвана ИЛЕ, увеличена дихателна честота (с повърхностно и учестено дишане) е установена при 4-ма болни (25 %), а в групата, лекувани с ИЛЕ – при 2-ма (50 %).

Пациентите, при които е регистрирано потискане на сърдечната честота в групата без ИЛЕ са 3-ма (17.75 %), а при тези с приложена ИЛЕ – 1 (25 %).

Изразената тахипнея, регистрирана при пациентите с включена в лечението ИЛЕ, се дължи на по-тежките форми на интоксикация в тази група.

Един от характерните животозастрашаващи ефекти при тежко остро отравяне с ФОП, съпътстващ потиснатите ЦНС-функции, е сърдечната токсичност. Mir и Rasool (2014) докладват случай на пациент с тежко ОФ отравяне, сърдечно-съдов шок, слабо реагиращ на конвенционални лечения, който според тях може да бъде реанимиран успешно чрез включване в терапевтичната схема на ИЛЕ. Касае се за 26-годишна жена, приета в спешно отделение, след поглъщане на неизвестно количество паратион. Пациентката е тахикардична, тахипнеична и хипотонична с точковидни зеници. Нивото на съзнание е 6 по GCS. Веднага е приложена стандартна схема на интензивно лечение с интубация, механична вентилация, Atropine и Pralidoxime (съгласно протокола на СЗО). Пациентката не реагира според очакванията и състоянието ѝ продължава да се влошава. За овладяване на брадикардията и хипотонията, се включва норадреналин като вазопресор (антихипотензивен агент). Поради неуспех на конвенционалното лечение, интравенозно се прилага единичен 100 mL болус (1.5 mL/kg) 20% *Intralipid*, като същата доза се повтаря 2 минути по-късно. За 15 минути сърдечно-съдовата дейност на пациентката значително се подобрява. Терапията с ИЛЕ продължава до обща доза от 300 mL, когато екстрасистолите изчезват. Жената е екстубирана на 5-я ден от приема със стойност по GCS 15. ***Според изследователите, липидоразтворимостта на ОФ предпоставя способността на ИЛЕ да измести тези съединения далече от мястото на токсичност, да ги разтвори в плазмата и да постигане ограничаване и намаляване на неблагоприятните им прояви. Те отбелязват, че това е първия доклад за остра интоксикация с ОФ при хора, който показва ефикасност на ИЛЕ като антидотна терапия извън приетите протоколи за лечение на токсичност, предизвикана от локални анестетици, с повлияване неврологичната и сърдечно-съдова токсичност.***

Липидна емулсия е използвана за лечението на сърдечно-съдова токсичност, наблюдавана при отравяне с мастноразтворимия неселективен системен хербицид глифозат (Gil et al., 2013).

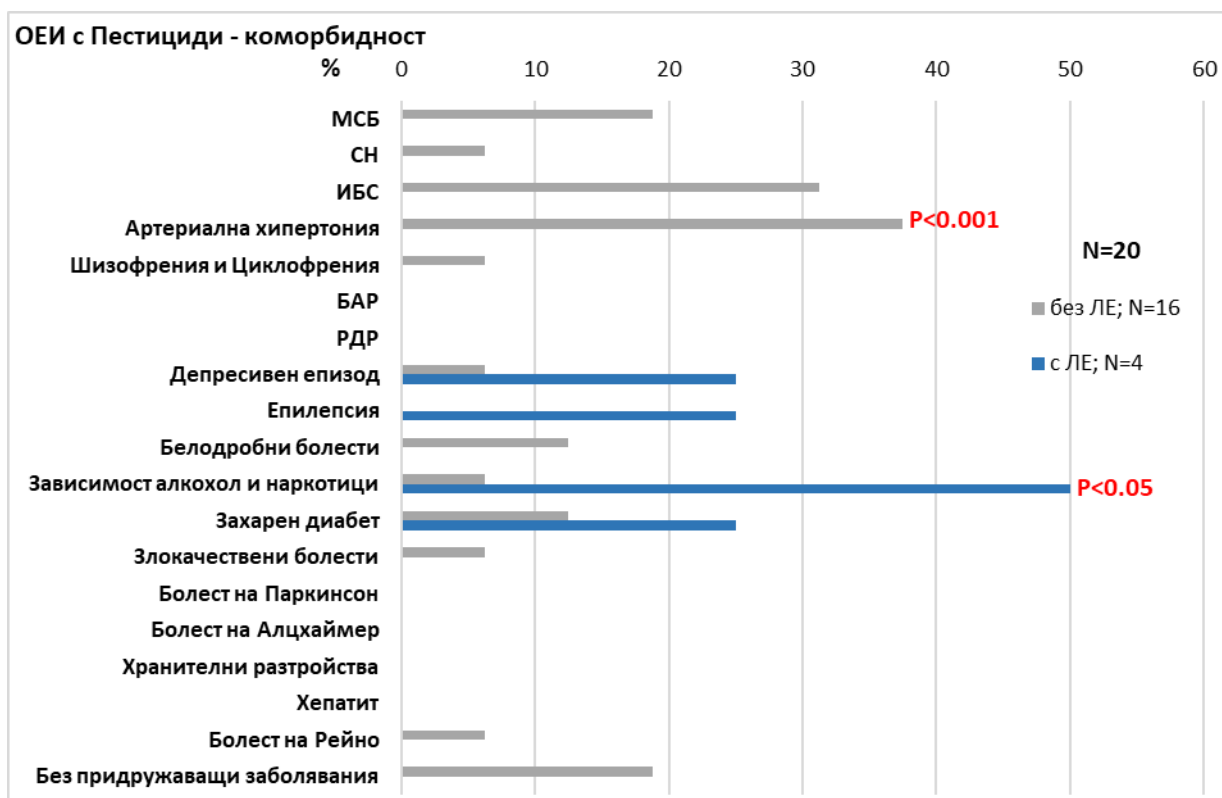
Целта на авторите е да изследват потенциалните терапевтични ефекти на ИЛЕ върху пациенти с остра интоксикация с глифозат. В проучването са включени 64 пациенти, разпределени в две групи – група с приложена ИЛЕ (група ИЛЕ, n = 22), и контролна група (n = 42), лекувани само чрез поддържаща (консервативна) грижа. Контролните пациенти са избрани чрез съпоставяне на погълнатото количество и времето след погълчането. В група ИЛЕ, 20 % липиден емулсионен разтвор се инжектира интравенозно със скорост 20 mL/h при пациентите, които са приели по-малко от 100 mL глифозат. При пациентите (13 души), които са приели повече от 100 ml глифозат, натоварващата доза е 500 mL за 2 ÷ 3 h според състоянието им, последвана от поддържаща доза от 1000 mL през следващите 24 часа. Резултатите показват, че при нито един пациент от групата с приложена ИЛЕ не се регистрира хипотония, докато приблизително 41 % от контролната група развиват усложнението. Освен това в групата с ИЛЕ не се наблюдава аритмия. Честотата на психични промени, дихателна недостатъчност и остра бъбречна травма е сходна между двете групи. Заключение на авторите е, че прилагането на ИЛЕ, постигащи по-ниска честота на хипотония и аритмия, изглежда ефективен начин на лечение при пациенти, погълнали количество глифозатен хербицид, достатъчно да доведе до значителна токсичност.

Нашите резултати и анализа на представените клинични случаи от наличните в литературата единични съобщения показват, че ИЛЕ в качеството на антидот демонстрира ефективна невро- и сърдечно-съдова протекция при ОЕИ с ФОП.

2.1.4. Съпътстващи заболявания и усложнения в хода на терапията

❖ Коморбидност

Разпределението на пациентите с ОЕИ с пестициди, според съпътстващите заболявания, е показано на фигура 40.



*БАР – биполарно афективно разстройство; **РДР – рекурентно депресивно разстройство

Фиг. 40. Коморбидност при пациентите с ОЕИ с пестициди (тест Хи-квадрат на Спирмен)

Водеща е артериалната хипертония, която е регистрирана при 6 пациенти, следвана от ИБС – при 5-ма и мозъчно-съдова болест – при 3-ма. По 2-ма са пациентите с белодробни болести, захарен диабет и депресивен епизод, и по 1 с останалите съобщени заболявания. Придружаващи заболявания не са установени при 3-ма от всички пациенти.

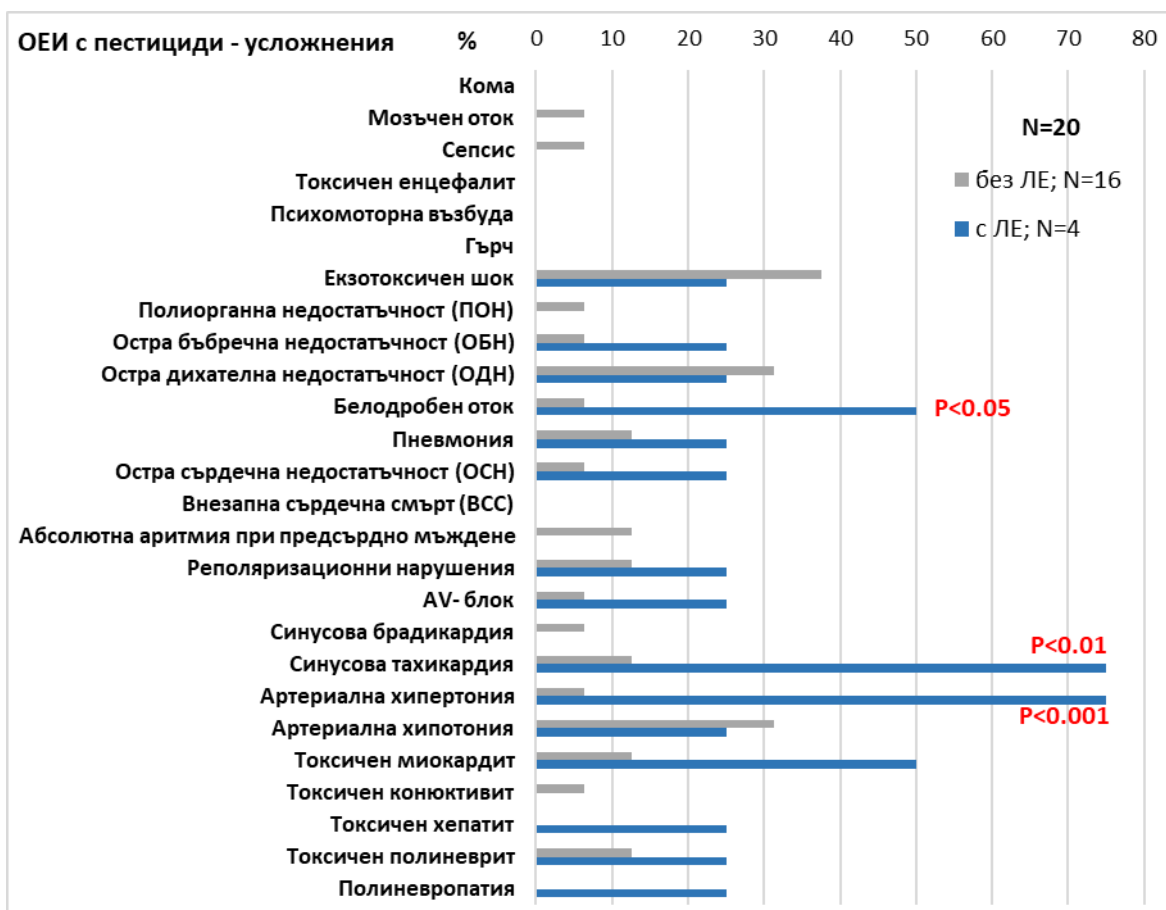
ИЛЕ е включена в терапията при пациенти със съпътстващи заболявания като депресия – 1, епилепсия – 1, захарен диабет – 1, алкохолна и/или наркотична зависимост – при 2-ма.

ИЛЕ не е приложена при пациентите със сърдечно-съдови заболявания (МСБ, СН, ИБС, хипертония).

Наличието на коморбидност, при някои от случаите, е допълнителна индикация за прилагането на ИЛЕ като допълнение към основните критерии за нейното приложение – тежестта на интоксикацията и анамнестичните данни за прием на голяма доза от пестицида.

❖ Усложнения в хода на терапията

Разпределението на пациентите с ОЕИ с пестициди, в зависимост от настъпили усложнения в хода на терапията, е представено на фигура 41.



Фиг. 41. Усложнения при пациенти с ОЕИ с пестициди (тест Хи-квадрат на Спирмен)

Водещото усложнение, настъпило в хода на развитието на клиничната картина на интоксикацията, респективно на терапията, в групата без ИЛЕ, е екзотоксичния шок, характерен за острите отравяния – при 6 пациенти (37.5 %), следван от ОДН – при 5-ма (31.25 %), артериална хипотония – при 5-ма (31.25 %), абсолютна аритмия при предсърдно мъждене – при 2-ма, реполаризационни нарушения – при 2-ма и при 1 – AV- блок.

В тази група преобладават съпътстващите заболявания на ССС, регистрирани са също белодробни болести и захарен диабет, което обяснява някои от настъпилите усложнения в хода на терапията.

При пациентите, при които в терапията е включена инфузия на ИЛЕ, се наблюдават усложнения като белодробен оток – при 2-ма пациента ($P < 0.05$ спрямо лекуваните без ИЛЕ), ОДН – при 1, синусова тахикардия – при 3-ма ($P < 0.01$ спрямо лекуваните само по стандартната схема), артериална хипертония също при 3-ма ($P < 0.01$ спрямо болните, лекувани без ИЛЕ), ОСН – при 1, токсичен миокардит – при 2-ма, AV- блок – при 1, реполаризационни нарушения – при 1, при 2-ма, съответно токсичен полиневрит и полиневропатия, а 1 развива токсичен хепатит. Данните корелират с клинично-лабораторните показатели, а именно – достоверно повишена активност на GGT, 20 % по-висока активност на ALAT, в сравнение с групата без ИЛЕ, повишени нива на кръвната захар (с 20 %) и потискане активността на ChE с много високо ниво на достоверност ($P < 0.001$).

При тези пациенти преобладават съпътстващите заболявания от страна на ЦНС, като депресия – при 1 пациент, епилесия – при 1, алкохолна и/или наркотична зависимост – при 2-ма, както и захарен диабет при 1 от тях.

Анализът на данните показва, че настъпилите усложнения в хода на терапията са по-скоро сърдечно-съдови, изразени с артериална хипотония, синусова тахикардия, абсолютна аритмия при предсърдно мъждене, реполяризационни нарушения, AV- блок, артериална хипертония, поради което не може да се търси връзка с коморбидността.

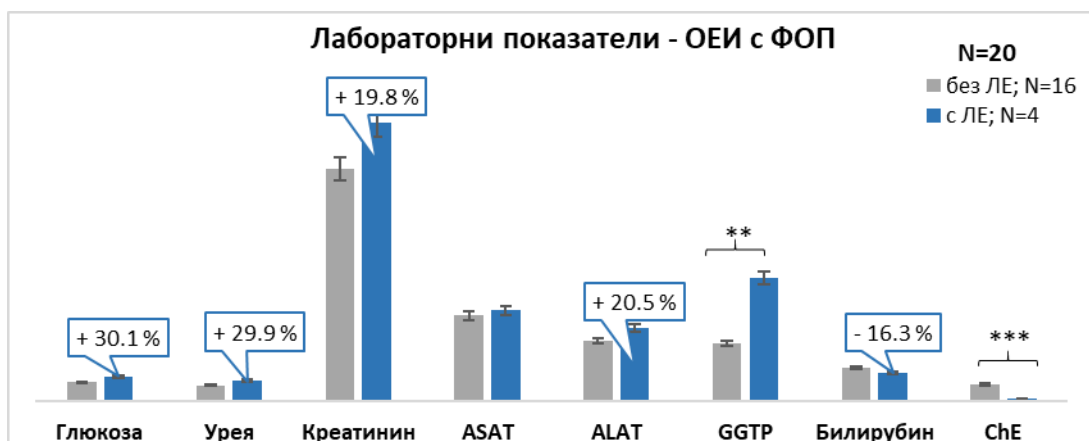
От друга страна, усложненията при 2-ма пациенти, при които е приложена ИЛЕ, съответно токсичен полиневрит – при 1 и полиневропатия при другия, показват, че маснатата емулсия не оказва съществени позитивни ефекти върху периферната нервна система. Регистрираните в хода на проучването усложнения в групата пациенти, лекувани с ИЛЕ, не са резултат от прилагането ѝ, а са свързани с тежестта на клиничната картина.

Тези резултати насочват към предположението, че при ОЕИ с пестициди и в частност с ОФ, включената в терапевтичната схема ИЛЕ проявява известни невропротективни ефекти върху ЦНС, в допълнение на кардиостимулиращите ѝ свойства.

Тази хипотеза може да бъде подкрепена с данните от изследването на Нан и сътр. (2010), които прилагат ИЛЕ при 52-годишен пациент с рефрактерна хипотония, резултат от интоксикация с глифозат-сурфактант (GlySH). Мъжът е открит в безсъзнание в дома си, заедно празна бутилка, съдържаща глифозат, повърхностноактивното вещество полиоксиетиленамин (РОЕА) и вода. При постъпване в спешното отделение той е *сънлив, с нарушено съзнание*, брадикардия и хипотония – пулсът му е 44 удара/мин, кръвното му налягане не може да се измери с маншет за ръка, но има осезаем феморален пулс. Предприета е механична вентилация, лечение с вазопресори и течности, направена е и стомашна промивка. Въпреки това около 2.5 часа след поддържащото лечение, той остава в критично състояние – хипотоничен, със систолно кръвно налягане е 80 mmHg. Приготвя се банка от 500 mL 20 % ИЛЕ. Като болус се инжектират 100 mL от нея и след това се вливат останалите 400 mL. Един час след болусната доза артериалното налягане на пациента е 100/60 mmHg, а на на 5-я час след въвеждането на ИЛЕ, достигна 160/100 mmHg. Скоро след стабилизирането му, той е екстубиран и няколко дни по-късно е изписан без последствия. Авторите считат, че циркулаторния шок е основна причина за смъртност при отравяне с глифозат-сурфактант (GlySH) и акцентират върху това, че състоянието реагира слабо на конвенционалните терапии. По тези причини ИЛЕ трябва да се има предвид в случаи на рефрактерна хемодинамична нестабилност, причинена от GlySH, след агресивна подкрепа на течности и вазопресори.

2.2. Анализ на промените в измерените клинично-лабораторни показатели

Промените в биохимичните показатели при пациентите с ОЕИ с пестициди при постъпването в КИЛООТ, повлияни предимно от органна и невротоксичност, са представени на фигура 42.



Фиг. 42. Промени в биохимичните показатели при пациентите с ОЕИ с пестициди; ** P < 0.01 * P < 0.001 спрямо групата, лекувана без ЛЕ**

Измерената активност на плазмената ChE при пациентите с ОЕИ с пестициди, при постъпването им в КИЛООТ, е понижена, което е в съответствие с основния токсичен механизъм на ФОП (инхибиране на ChE). При тези, при които е приложена ИЛЕ, стойностите са значимо пониски в сравнение с групата без ИЛЕ (P < 0.001.) Това се дължи на по-тежките форми на интоксикация в групата пациенти, лекувани с ИЛЕ.

Нивата на плазмената глюкоза при пациентите, при които е приложена мастна емулсия, са с 30 % по-високи от групата без ИЛЕ, което няма връзка с включването ѝ в лечебната схема, тъй като те са определени при постъпването на пациентите в клиниката.

Чернодробната токсичност е проявена с повишена активност на трансаминазите. От чернодробните ензими активността на GGT е достоверно по-висока при пациентите, при които е взето решение за прилагане на ИЛЕ, в сравнение с тези от групата, лекувани само със стандартните методи (P < 0.01). Стойностите на ALAT също са с 20 % по-високи, докато по отношение активността на ASAT не са отчетени разлики. Концентрациите на ALAT в групата болни с приложена ИЛЕ (4) са близки до горната гранична референтна стойност (< 34).

Бъбречните увреждания са манифестирани с повишени концентрации на урея и креатинин, които при пациентите с включена ИЛЕ са по-високи от тези на лекуваните по стандартната схема, съответно с 29.9 % и с 19.8 %.

Чернодробни и бъбречни увреждания се регистрират често при остри отравяния с органофосфати. Според нас установените отклонения в тези показатели при групата пациенти, при които е приложена ИЛЕ се дължат на по-тежките форми на интоксикация, критерий за включването ѝ като допълнение към терапията.

Mahendrakar и сътр. (2014) съобщават за нефропротекция на ИЛЕ при остро отравяне с ФОП. Касае се за случай при 35-годишен мъж, който развива сърдечно-съдов шок и **бъбречна недостатъчност**, след умишлено поглъщане на около 200 mL хербицид, съдържащ глифозат. Лечението е проведено със стомашна промивка, интубация и механична вентилация, инфузия на норадреналин и вазопресори, непрекъсната венозно-венозна хемодиалтизация и 20 % ИЛЕ (100 mL). Комбинираната терапия е прилагана за период от няколко дни, до постигане на клинично подобрение и пациентът е изписан без съобщения за последствия.

Поради липсата на специфичен антидот за лечение на отравянията с ОФ, този доклад подчертава значението на ИЛЕ като навременна системна поддържаща мярка и единствен

метод за постигане на успешен резултат при проявена нефротоксичност, което се потвърждава и от нашите резултати.

2.3. Продължителност на болничния престой и леталитет при пациентите

❖ Болничен престой

Ефективността на ЛЕ чрез проследяване продължителността на болничния престой е илюстрирана на фигура 43.



Фиг. 43. Разпределение на пациентите с ОЕИ с пестициди според продължителността на болничния престой (тест Хи-квадрат на Спирмен)

При 7 пациенти от групата без ИЛЕ, болничният престой е 1 ден, при 4-ма – 2 дена, при 1 – 3 дена и при 4-ма повече от 5 дена.

Средният престой при пациентите от групата без ИЛЕ е 3.4 дни, а при лекуваните с ИЛЕ – 12.25 дни. Разликата в показателя между двете групи е статистически достоверна ($P < 0.01$) и се дължи на тежките форми на интоксикация в групата с ИЛЕ.

ИЛЕ е приложена само при 4-мата пациенти с органосфатна интоксикация, лекувани в КИЛООТ, през периода 2013 ÷ 2019 г. – 2-ма с *диметоат* и по един, съответно с *фенитропион* и *комбинирана* (пиретроид и ФОП – с летаен изход). Болничният престой при тях, в сравнение с всички останали, е значително по-продължителен (> 5 дена) ($P < 0.01$), което се обяснява с високата токсичност на ноксата и свързаната с това по-голяма тежест на остро отравяне, наложили включване на мастна емулсия. За илюстрация на резултатите, по-долу са разгледани случаите на преживелите отравянето пациенти:

Ф. А. А. (2013 г.). Касае е се за 64-годишен мъж с овладяна предишния ден хипертонична криза, приет в клиниката със следните симптоми: затруднено повърхностно дишане с тахипнея, единични хрипове двустранно, умерена саливация, инконтиненция, спонтанно повръщане и прогресираща обща слабост. Съзнанието е потиснато, наблюдават се обнибулация, лек тремор без гърчове, усилена перисталтика, бледа и леко цианотична влажна кожа. Придружаващо заболяване – епилепсия. При направената ЕКГ е установена синусова тахикардия, а рентгенографското изследване показва белодробен застои. Клинико-лабораторните показатели (нива на глюкоза, урея, креатинин, ALAT и GGTP) са повишени, установена е тежка метаболитна ацидоза; активността на

плазмената ChE е изключително ниска (0.13 kU/L). След като е изяснено, че пациентът е поел „гълтка Агрива“, е назначена стандартната терапия при остро отравяне с ФОП. Усложнения в хода на интоксикацията са токсична миолиза, токсичен хепатит, токсичен миокардит, итермедиерен синдром и ОБН. Въведена е и допълнителна лечебна процедура с ИЛЕ *Lipovenoes* 20 %, с болусна доза от 1.5 mL/kg, последвана от инфузия до обща доза от 1000 ml. Преодолени са екзотоксичния шок, и М и N-холиномиметични синдроми. След 10-дневна терапия, пациентът е изписан с усложнение „късна полиневропатия“.

И. К. К. (2018 година). 79-годишен мъж е хоспитализиран след перорален прием на 60 ÷ 70 mL фосфорорганичен пестицид *диметоат*. Постъпва в КИЛОТ в увредено общо състояние, контактен, дезориентиран, с обнибулация, миотични зеници и астено-адинамия. Мускулният тонус е леко намален, но без фибрилации, леко ускорена перисталтика. Дихателна и сърдечна честота са в норма, без ЕКГ-отклонения. Ренгенографията на белият дроб отчита белодробен застой и перихилерна пневмофиброза. Пациентът е с изразена алкохолна зависимост. Изследваните клинично-лабораторни изследвания показват повишени нива на чернодробните трансаминизи (ASAT, ALAT, GGTP) и потисната активност на ChE (2.7 kU/L) със стойност под референтната. Назначена е стандартна терапия при остро отравяне с ФОП. Приложено е и допълнително лечение с ИЛЕ *Intralipid* 20 % с болусна доза от 1.5 mL/kg, последвана от интравенозна инфузия до обща доза от 1000 mL. **Пациентът е дехоспитализиран след 7-дневно лечение.**

(2019 година). Клиничен случай на 64-годишен мъж, хоспитализиран 24 часа след орален прием на 50 mL *фенипропион* (Агрива 1050). Хоспитализиран е с потиснато съзнание (8 по GCS), тахипнея, тахикардия и хипертония. Скоро след това започва да повръща. Първоначално отказва хоспитализация, но 10 часа по-късно развива астено-адинамия с диспнея и миофибрилации и на 23-я час е приет отново по спешност с хиперсаливация, миоза, обилно изпотяване, намален мускулен тонус и хипотония. Рентгенографското изследване показва белодробен арест. Започнато е стандартното лечение за този вид интоксикация. На 3-я час в лечебната схема е включена интравенозно мастна емулсия *Intralipid* 20 %, като болус доза 1.5 mL/kg, с последваща инфузия със скорост 0.25 mL/kg/min до обща доза 1000 mL. На 16-я час съзнанието е възстановено (GCS – 15). Проследяваните в динамика лабораторни показатели демонстрират леко бъбречно и чернодробно увреждане, активността на ChE е понижена. **Пациентът е изписан от клиниката на 10-я ден от постъпването в добро общо състояние.**

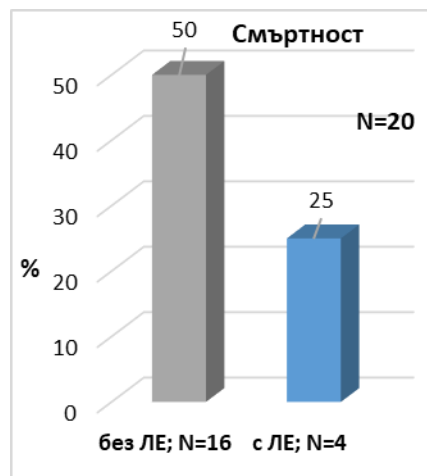
Тези случаи, както и анализът на данните от публикуваните в литературата, макар и единични съобщения, са основание да се препоръча включването на ИЛЕ в лечебната схема при тежки интоксикации с ФОП, като допълнителен метод за овладяване както на кардиотоксичните, така и на невротоксичните ефекти.

❖ Смъртност

Интоксикациите с пестициди са изключително рискови с висок процент леталитет, въпреки приложението на адекватно и навременно лечение, което до голяма степен се дължи на липсата на ефективни атидотни средства. Одобрените при остри отравяния с ФОП антидоти, включени в терапевтичната схема, са периферното антихолинергично лекарство Atropine като антагонист на мускариновите рецептори и оксими, които реактивират инхибираната ChE и чиято клиничната полза е доста оспорвана, са известни и се прилагат от 50-те години на миналия век. Тъй като голяма част от ОФ са липофилни съединения, се предполага, че ИЛЕ, която е безопасна и

ефективна при лечението на отравяния с други разтворими в липиди токсични агенти, може да бъде ефективна в качеството ѝ на антидот и при остри отравяния с ФОП.

Ефективността на ИЛЕ при случаи на ОЕИ с пестициди е определена чрез отчитане на смъртността, а резултатите са представена на фигура 44.



Фактор	ОЕИ без ИЛЕ (N=16)	ОЕИ с ИЛЕ (N=4)	Рисков коефициент
Смъртност	50 %	25 %	2

Фиг. 44. Смъртност при пациентите с ОЕИ с пестициди

В групата пациенти без ИЛЕ (n = 16) смъртността е 50 % (8 от случаите).

При лекуваните с ИЛЕ (n = 4) е починал 1 пациент (25 % от случаите). Касае се за 73 годишен мъж (**З. К. Ж., 2016 г.**) със *смесена интоксикация*, хоспитализиран след перорален прием на 20 ÷ 30 mL *пиретроид* (циперметрин) и *хлорпирифос етил*. Постъпва в КИЛООТ в крайно тежко и увредено общо състояние, с дъх на фосфоорганичен препарат от устата, с М-холиномиметичен синдром, без клинична изява на Н-холиномиметичен. Съзнание – елементарно контактен, объркан, с обнибулация, с непрекъснати позиви за повръщане и миоза с еднакви по размер зеници. Дихателната и сърдечната честота са в норма, но са регистрирани надкамерни и камерни екстрасистолии. При рентгенографско изследване са установени изменения в бял дроб (засенчване). Перисталтиката е усилена с чести дефекации. Придружаващи заболявания – от страна на ендокринната система (захарен диабет тип II и хроничен етилизъм). Клинико-лабораторните изследвания показват повишени нива на кръвна захар 11.6 mmol/L; ALAT 47 U/L, GGTP 70 U/L и тежка метаболитна ацидоза. Нивата на ChE (0.18 kU/L) са много под референтната стойност (> 5.32). Назначена е стандартна терапия при остро отравяне с ФОП. Пациентът остава с ясно съзнание като интоксикацията протича със значителна резистентност на атропиновите инфузии, които са ежедневно по 40, а по-късно по 20 амп. дневно. Поради липса на Intralipid, по това време, в терапията, като животоспасяващо средство, е включена инфузия с *Periolimel* (мастна емулсия, предназначена само за бавна инфузия), без начална болусна доза. Постепенно се появява умора в дихателната мускулатура (интермедиерен синдром с дихателна недостатъчност, усложнен от тежката двустранна пневмония). Последната се засилва и трикратно се налага интубиране. Наблюдава се тежко изразен кардиотоксичен синдром с чести камерни и надкамерни екстрасистолии и бигеминия, двустранен AV-блок. Не е налице потискане на съзнанието. Разгръща се и тежка полиневропатия с изразена мускулна адинамия. На фона на тежки интермедиерен

синдром, полиневропатия, консумативен синдром, пулмопатия и токсична кардиомиопатия и ChE, която не показва никакво повишение през всичките дни, пациентът спира дишане и сърдечна дейност. След 15-дневно лечение изходът от интоксикацията е летален.

Вероятно липидната емулсия Periolumel е неподходяща форма за антидотно лечение, тъй като количеството ѝ в един сак от 1500 mL е само 300 mL, съответно 400 mL в сак от 2000 mL и 500 mL в сак от 2500 mL. За едно денонощие, т. е., в рамките на 12 ÷ 24 часа, се препоръчва вливане на един сак с Periolumel. По този начин общото количество на получената от пациента ЛЕ, от една страна, е малко и недостатъчно и от друга, вливането е много бавно, поради което ИЛЕ не може да прояви антидотния си ефект. Това още веднъж показва ролята на болусната доза ИЛЕ за образуване на необходимата, за „улавяне“ и извличане на токсичните агенти от прицелните органи, „липидна мивка“, което обаче, по никакъв начин не означава, че въвеждането на болус доза би повлияло позитивно изхода от тази тежка смесена остра интоксикация.

Изчисленият коефициент на риска (рисков фактор) за летален изход, при пациентите с ОЕИ с пестициди, включително ОФ, лекувани без ИЛЕ е 2.

Други фактори, определящи изхода от лечението на острите интоксикации с ОФ, са възрастта на пациентите и количеството на погълнатия препарат. Roberts и съвт. (2010) публикуват клинични резултати, доза-отговор и кинетика на глифозат след самоотравяне със съдържащи го хербициди. Въпреки, че глифозатът (Roundup, Glifor) – липидно разтворим неселективен системен хербицид, се отнася към слабо опасните за животните оорганофосфати (LD₅₀ р. о. > 5000 mg/kg т. м. за плъхове, > 10000 mg/kg за мишки и 3530 g/kg за кози, при хора се наблюдава тежка токсичност, дължаща се на повърхностно-активното вещество (Glyphosate Technical Fact Sheet). Обект на проучването са 601 пациенти, по-голямата част от които са погълнали концентрирана формулировка (36 % w/v глифозат). От тях 27.6 % са безсимптомни, 64 % са с леки отравяния и 5.5 % от пациентите са с умерено до тежко отравяне. Регистрирани са 19 смъртни случая (3.2 %) със средно време до смъртта от 20 часа. **Фаталните случаи са силно свързани с по-напреднала възраст, по-голяма погълната доза и високи плазмени концентрации на глифозат при постъпване (> 734 µg/mL).** Наблюдавани са стомашно-чревни симптоми, дихателен дистрес, хипотония, променено ниво на съзнание и олигурия. В резултат на проучването, авторите считат, че са необходими повече изследвания за определяне на механизма на токсичност, по-добро предсказване на малката група с риск от смърт и намиране на ефективно лечение.

Докладът на Mahendrakar и сътр. (2014) за случай при 35-годишен мъж подчертава значението на ИЛЕ като навременна системна поддържаща мярка и единствен метод на лечение за постигане на успешен резултат при остра интоксикация с глифозат.

Разгледаните случаи показват, че резултатите от нашето проучване при пациенти с ОЕИ с пестициди, са в съответствие с данните от публикуваните в литературата изследвания и потвърждават протективния ефект на ИЛЕ по отношение преживяемостта и леталитета при остри отравяния с ФОП.

Б. ПРЕДКЛИНИЧНО ПРОУЧВАНЕ. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ

Според Маринов (2002), органофосфатите предизвикват 55 % от всички отравяния с пестициди, като най-чести са интоксикациите с *диметоат* (Маринов и кол., 1999). Анализът на данните от проведеното от нас ретроспективно клинично проучване при пациенти с остри екзогенни интоксикации с пестициди, лекувани в КИЛОТ при ВМА – Варна, през периода 2010 ÷ 2020 г., потвърждават установената висока честота на отавянията с органофосфатния инсектицид *диметоат*, в сравнение с другите токсични агенти от разглеждания клас продукти, който предизвиква 88.89 % от ОЕИ с ФОП.

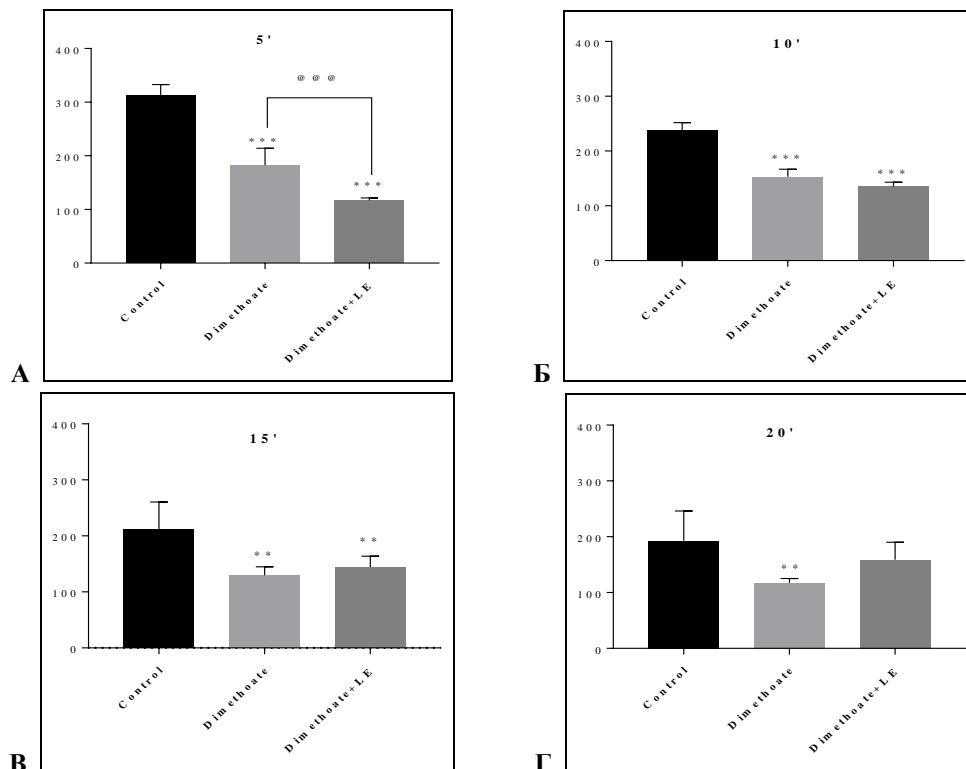
По тези причини, за изследване невропротективната роля на мастната емулсия при остри екзогенни интоксикации, *диметоатът* е предпочетеният от нас пестицид за реализиране на експерименталния модел на остра токсичност при опитни гризачи.

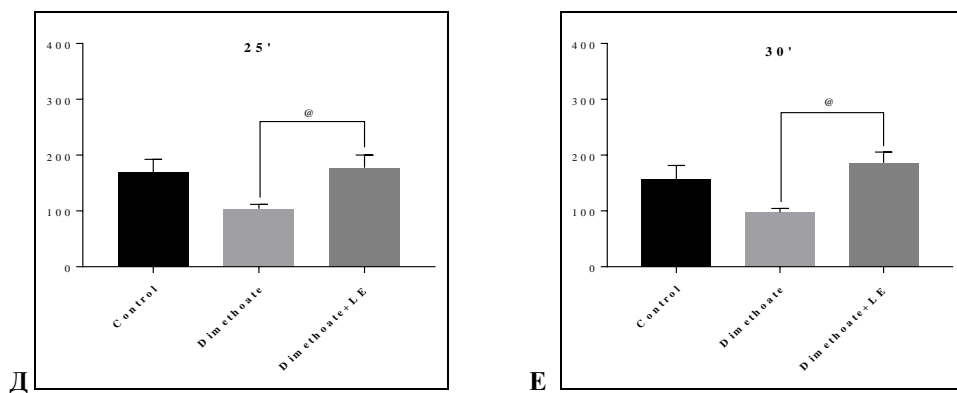
1. Ефекти на ЛЕ върху сърдечната и дихателната честота, и преживяемостта при експерименталните плъхове с диметоат-индуцирана остра интоксикация

1.1. Сърдечна честота

Проследени са сърдечната и дихателната честота при опитните животни след интраперитонеалното въвеждане на изследваните вещества за период от 30 минути, през 5-минутни интервали. За изследване невропротективния ефект на мастната емулсия при ОЕИ с ФОП и в частност с диметоат, след отравянето, плъховете са третирани с препоръчаната в хуманната медицина болус доза от 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ *Intralipid* (най-широко използваната мастна емулсия).

Промените в сърдечната честота са представени на фигура 45.





Фиг. 45. Промени в сърдечната честота при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** p < 0.01 спрямо контролите; *** p < 0.001 спрямо контролите; @ p < 0.05 спрямо група Диметоат; @@@ p < 0.001 спрямо група Диметоат

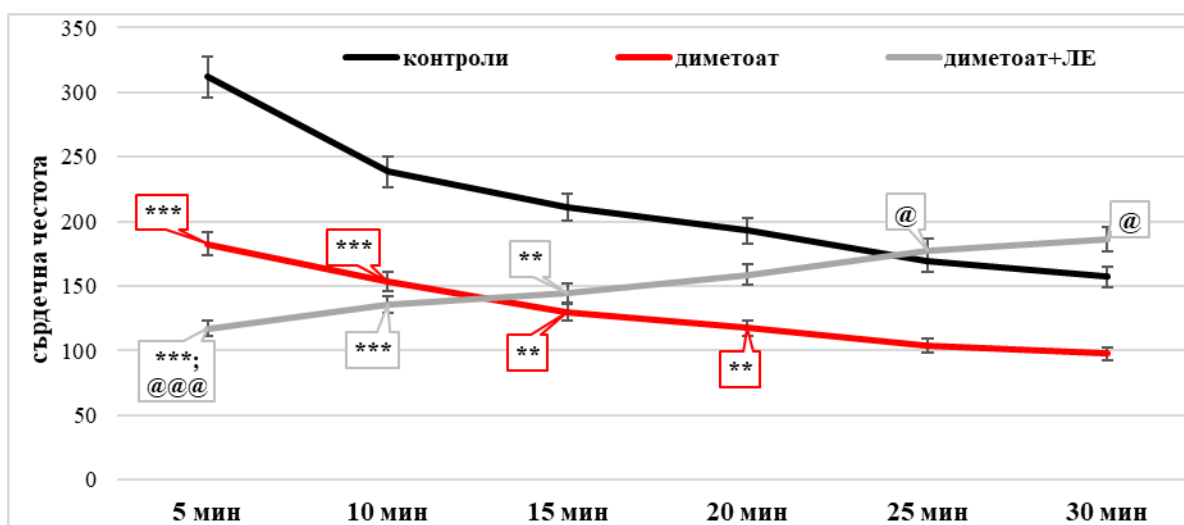
В първите четири времеви пункта (5', 10', 15' и 20') в отговор на предизвиканата от *диметоата* токсичност, се регистрира достоверно понижаване на сърдечната честота в сравнение с контролите (Фиг. 45. А, Б, В, Г).

След въвеждането на *Intralipid*, до 20-та минута, вероятно поради по-бавната резорбция на маснатата емулсия, не се наблюдава измеримо подобрене в показателя.

На 25-та и на 30-та минута се отчита достоверно повишение в сърдечната честота на плъховете, в сравнение с тези, при които не е приложена ЛЕ (p < 0.05) (Фиг. 45. Д, Е).

Стойностите на показателя при гризачите с приложена ЛЕ на 25-та и на 30-та минута са близки до тези на контролите.

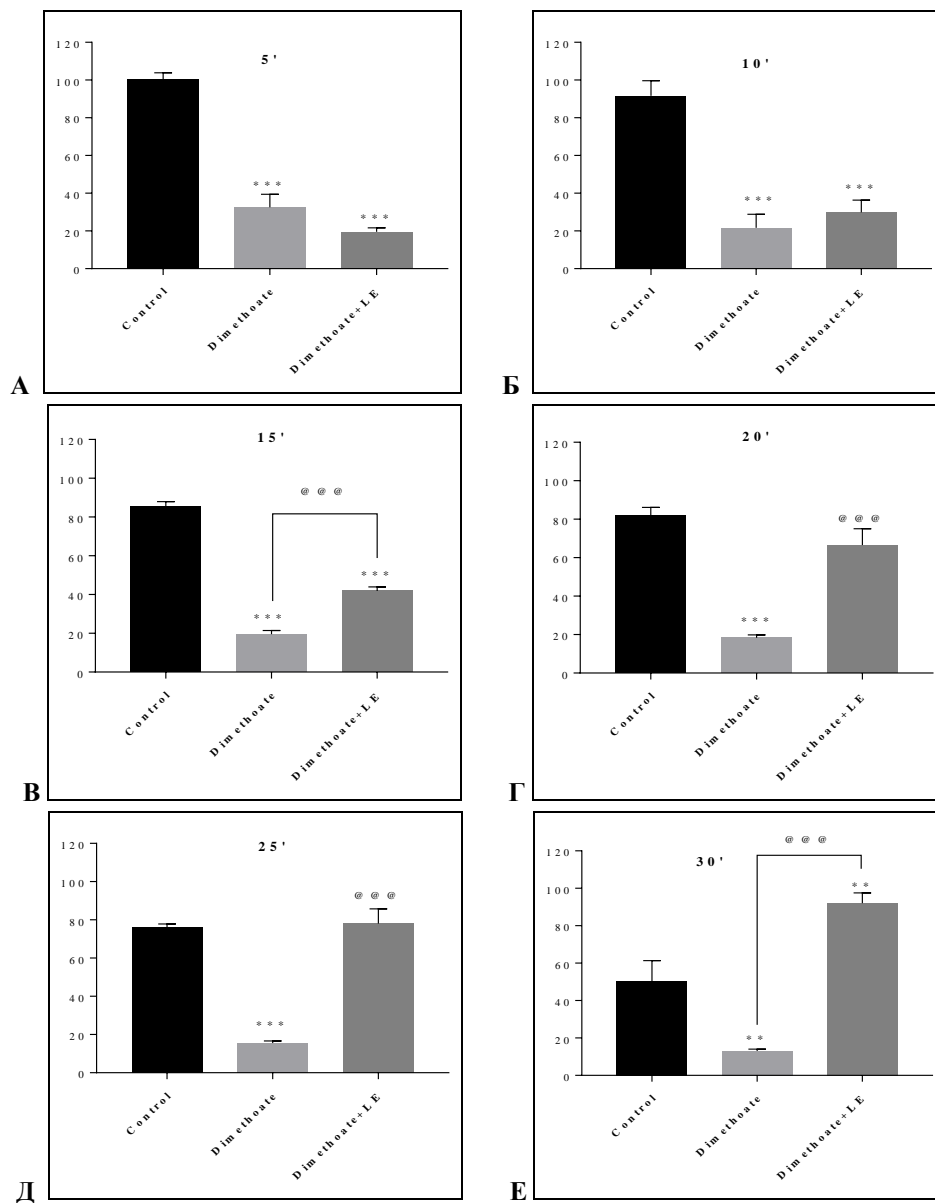
На фигура 46 под формата на хистограма е илюстрирана динамиката на сърдечната дейност при изследваните гризачи.



Фиг. 46. Динамика на сърдечната честота при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ – период от 30 мин през 5-минутни интервали; ** p < 0.01 спрямо контролите; *** p < 0.001 спрямо контролите; @ p < 0.05 спрямо група Диметоат; @@@ p < 0.001 спрямо група Диметоат

1.2. Дихателна честота

Промените в дихателната честота при опитните животни след въвеждането на изследваните вещества за период от 30 мин, през 5-минутни интервали, са представени на фигура 47.



Фиг. 47. Промени в дихателната честота при плъховете с остра нитоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** p < 0.01 спрямо контролите; *** p < 0.001 спрямо контролите; @ p < 0.05 спрямо група Диметоат; @@@ p < 0.001 спрямо група Диметоат

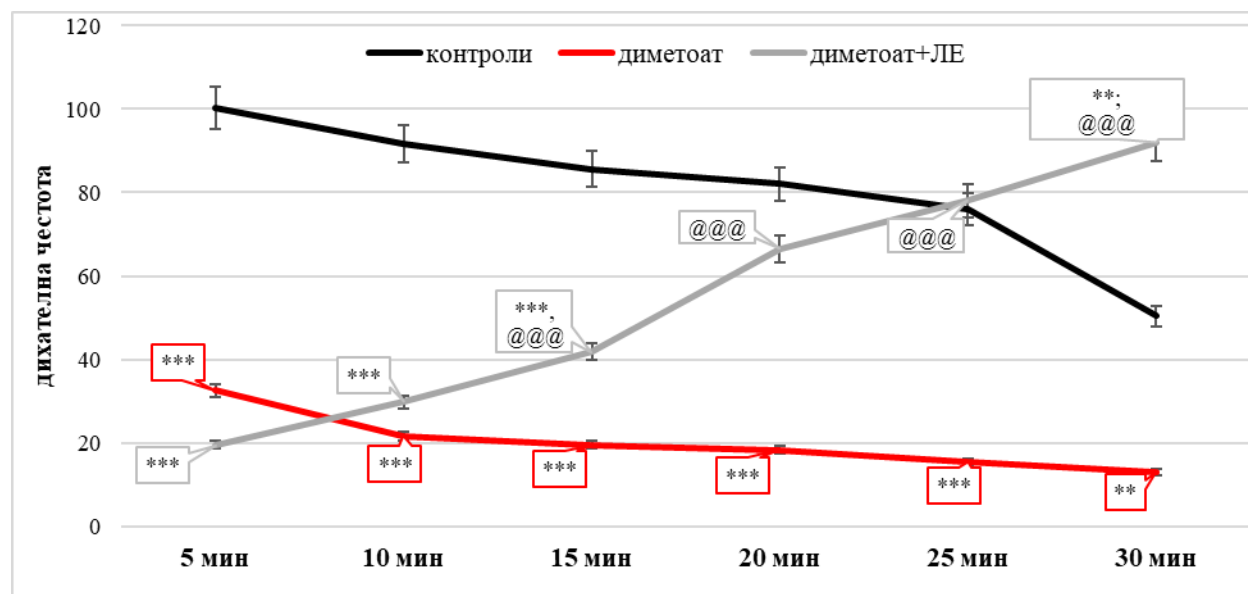
В първите два времеви пункта (5' и 10') в отговор на предизвиканата от *диметоата* остра токсичност се наблюдава достоверно понижаване на дихателната честота в сравнение с

контролите, което е с висока сигнификантност ($P < 0.001$) (Фиг. 47. А, Б). До 10-та минута не се отчита значимо подобрене в показателя при приложението на *Intralipid*.

На 15-та минута се регистрира повишение в дихателната честота на плъховете с приложена ЛЕ в сравнение с тези, третирани само с *диметоат*, с високо ниво на достоверност ($P < 0.001$), като въпреки това тя остава измеримо по-ниска от тази при контролите (Фиг. 47. В).

Стойностите на показателя при животните с приложена ЛЕ на 20-та и на 35-та минута са близки до тези на контролите, а на 30-та дори ги надвишават със степен на достоверност $P < 0.01$ (Фиг. 47. Г, Д, Е)

Динамиката на дихателната честота при изследваните гризачи, под формата на хистограма, е показана на фигура 48.

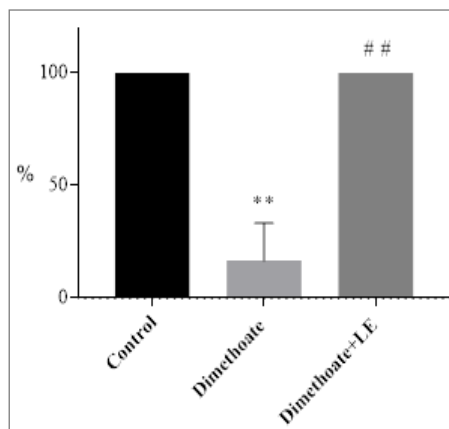


Фиг. 48. Динамика на дихателната честота при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ – период от 30 мин през 5-минутни интервали; ** $p < 0.01$ спрямо контролите; *** $p < 0.001$ спрямо контролите; @@@ $p < 0.0001$ спрямо група Диметоат

Промените в дихателната и сърдечната честота са показателни за токсичните ефекти върху вегетативните функции в ЦНС. Сравнението с клиничните данни показва, че при експерименталните плъхове с индуцирана от *диметоат* остра интоксикация, при които е приложена ЛЕ, се наблюдава възстановяване на тези функции с много висока степен на значимост в сравнение със здравите контроли ($P < 0.001$), докато при пациентите с остри интоксикации с пестициди, включително ФОП, ИЛЕ не повлиява така отчетливо промените в двете вегетативни функции. Различието може да се обясни с това, че при пациентите с остри органофосфорни интоксикации сърдечната честота се определя основно от антидотното лечение с атропин, а дихателната честота зависи от тежестта на интоксикацията, респективно от наличието на дихателни усложнения като белодробен оток, интермедиерен синдром, пневмонии и други.

1.3. Преживяемост

За оценка ефективността на препоръчаната за терапия на ОЕИ в хуманната медицина болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ, е проследена преживяемостта при експерименталните плъхове с диметоат-индуцирана остра токсичност (Фиг. 49).



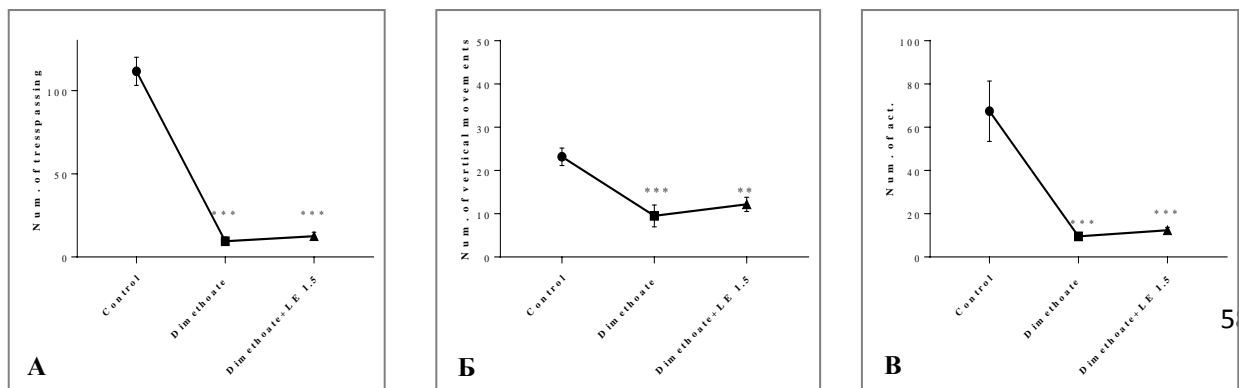
Фиг. 49. Преживяемост при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** $p < 0.01$ спрямо контролите; ## $p < 0.01$ спрямо група Диметоат (Непараметричен T-test на Spearman)

За анализа на резултатите (в %) е използван корелационен непараметричен T-test на Spearman. *Диметоатът* статистически достоверно намалява преживяемостта на опитните животни спрямо контролните ($P < 0.01$). Болусното въвеждане на дозата 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ води до запазване виталитета на всички гризачи (100 % преживяемост) за периода на наблюдението, като установения достоверен ръст в показателя в сравнение с групата, при която не е приложена ЛЕ, е с висока сигнификантност ($P < 0.01$).

2. Ефекти на ЛЕ върху поведенческите функции при експерименталните плъхове с диметоат-индуцирана остра интоксикация

2.1. Проследяване на общата двигателна активност при гризачите с тест на откритото поле (*Open field test*)

Промените в двигателната активност при плъховете са илюстрирани на фигура 50.



Фиг. 50. Промени в двигателната активност при плъховете с остра интоксикация с диметоат, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** P < 0.01, * P < 0.001 спрямо контролната група; *А – двигателна активност при хоризонтални движения; Б – двигателна активност при вертикални движения; В – обща двигателна активност**

Резултатите от теста показват, че острата токсичност, индуцирана от *диметоат*, предизвива статистически достоверно понижение на двигателната активност при хоризонталните движения, изразено с отчетливо нарушаване координацията на животните при ходене. Доказателство за това е регистрирания брой пресичания на линиите по пода на постановката, който е 10 пъти по-малък в сравнение с този при контролните плъхове (P < 0.001). Не са наблюдавани позитивни ефекти на ЛЕ върху хоризонталните движения при гризачите с диметоат-предизвикана токсичност (Фиг. 50 А).

Аналогични са резултатите и по отношение на двигателната активност, проявена чрез вертикалните движения (Фиг. 50 Б). Токсичният агент понижава статистически достоверно броят изправяния на задни лапи в сравнение с броя при контролните животни (P < 0.001). Наблюдава се много слаба позитивна промяна в изследвания параметър след прилагането на ЛЕ спрямо плъховете от групата без ЛЕ, но повишението, сравнено с контролната група, остава статистически недостоверно (P < 0.01).

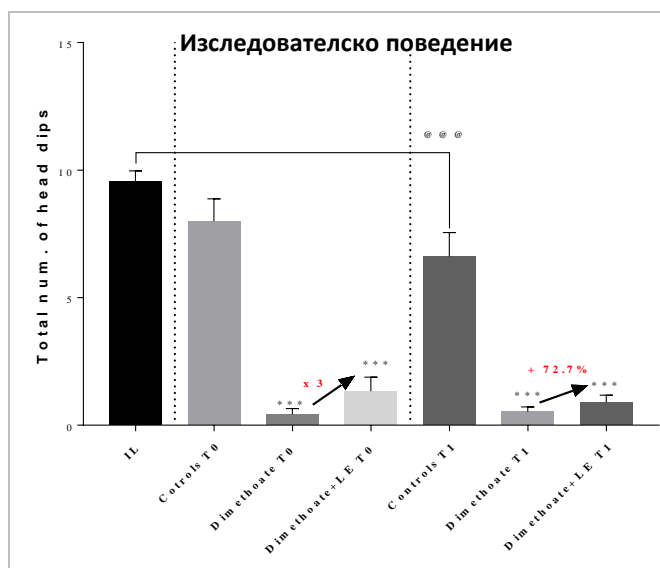
Сумарното представяне на общия брой движения (хоризонтални и вертикални), характеризиращи двигателната активност при експерименталните плъхове (Фиг. 50. В) потвърждава увреждащите ефекти на органофосфатния инсектицид върху общата локомоция.

В заключение ЛЕ демонстрира съществени ефекти върху промените на изследвания показател (Фиг. 50).

Тези резултати водят до предположението, че маснатата емулсия не влияе върху периферното нервно-мускулно предаване, в противовес на категорично установените позитивни ефекти върху дихателната и сърдечната честота при отровените с диметоат плъхове. Оттук може да се направи извода, че терапевтичните ефекти на ЛЕ срещу диметоат-индуцираната невротоксичност са локализирани в ЦНС.

2.2. Проследяване на проучвателната активност при гризачите с *Hole board test*

Промените в проучвателната активност при плъховете от наблюдаваните групи са представени на фигура 51.



Фиг. 51. Промени в проучвателната активност при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ веднага след инжектирането (Т0) и 20 мин след това (Т1); *** P < 0.001 спрямо контролите – при Т0 и Т1; @@@ P < 0.001 спрямо началното обучение (IL)

Резултатите от сравняването на общия брой погледи в дупките, разположени на пода на експерименталната постановка показват:

- При здравите контроли се наблюдава нормално намаление в изследователската активност при повтарящо се тестване 24 часа след НО, като на 20-та минута след инжектирането показателят е достоверно понижен спрямо НО (P < 0.001).

- Интоксикираниите с диметоат животни, както и тези, лекувани с ЛЕ, демонстрират значително понижена експлоаторна активност в сравнение с контролите при отчитането в съответния времеви пункт (Т0 – веднага след инжектирането и Т1 – 20 мин след приложение на веществата), с високо ниво на статистическа достоверност (P < 0.001).

- Независимо от това, при Т0 активността на групата плъхове с приложена ЛЕ, е повишена трикратно в сравнение с отровените с *диметоат*, при които не е приложена ЛЕ; такова повишение от 72.7 % е отчетено и при Т1.

3. Ефекти на ЛЕ върху изследваните биохимични показатели в кръвната плазма при експерименталните плъхове с диметоат-индуцирана остра интоксикация

При всички опитни гризачи са измерени стойностите на ChE, глюкоза, урея, креатинин, общ и директен билирубин, общ холестерол, триглицериди, GGT, ASAT и ALAT.

На таблица 3 са представени промените в клинично-лабораторните показатели при отделните групи.

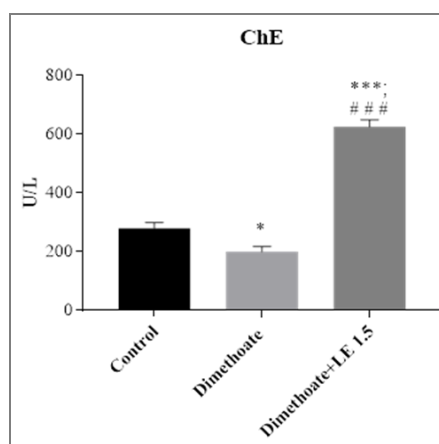
Таблица 3. Промени в клинично-лабораторните показатели при отделните групи експериментални плъхове

Лабораторни показатели	Контроли (n = 7)	Диметоат (n = 7)	Диметоат + ЛЕ 1.5 mL/kg (n = 7)	Референти (плъх)
ChE (U/L)	280	200	625.71	490 ÷ 1100
Глюкоза (mmol/L)	8.40	25.63	9.61	6.6 ÷ 13.7
Урея (mmol/L)	8.25	10.45	8.09	7.49 ÷ 10.49
Креатинин (μmol/L)	47.57	69.86	54.86	42.96 ÷ 55.69
Общ BR (μmol/L)	4.51	3.27	4.94	4 ÷ 7
Директен BR (μmol/L)	2.16	1.79	1.23	0.51 ÷ 1.03
Общ холестерол (mmol/L)	1.53	1.33	1.87	0.96 ÷ 2.46
Триглицериди (mmol/L)	1.20	1.01	1.05	0.31 ÷ 1.81
GGT (U/L)	11.02	9.28	9.71	0 ÷ 9
ASAT (U/L)	118.40	610	240.80	63 ÷ 175
ALAT (U/L)	33	81	69.43	19 ÷ 48

◆ Холинестераза

Потискането на плазмената ChE (сукцинилхолинестераза) е по-късен маркер за остра токсичност, тъй като трябва да се ангажира около 80 % от наличната активност в серума, за да започне свежа продукция. 20 % остатъчна активност от общата ензимна активност се смята за биологичен праг. Проявява се след 2 ÷ 3 и повече часа, но се понижава и нормализира (възстановява) по-късно и по-бавно в сравнение с трансминазите, тъй като трябва да се ангажира по голяма част от наличната ChE. През 1989 г. (IPCS) е изказано предположение, че инхибирането на еритроцитите, но не и на плазмената ChE, е най-чувствителният индикатор за експозиция на *диметоат* и за токсичност, което е потвърдено през 1964 година в проучване с животни от Sanderson и Edson. По-късно, в краткосрочни проучвания е установено, че лабораторните животни демонстрират намалена активност на ChE в червените кръвни клетки, плазмата и мозъка, въпреки липсата на клинични признаци за токсичност (IPCS, 2003). Проучване на Ozkan и кол. (2014) с експериментални плъхове установява, че активността на ChE е важна за диагностика на ОФ интоксикация и клинични признаци на мускариново-никотиновите рецептори, но няма значение за определяне на невродегенерацията, както и това, че *Intralipid* намалява тежестта на невродегенеративните увреждания и симптомите на ОФ интоксикация, поради което може да се използва като поддържащ агент.

Промените в активността на плазмената ChE след приложената доза ЛЕ при плъховете с остра интоксикация с диметоат са илюстрирани на фигура 52.

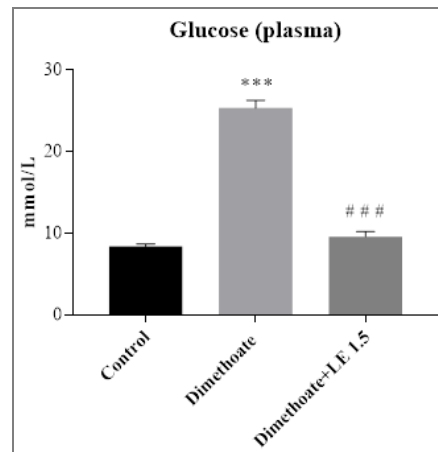


Фиг. 52. Нива на плазмена ChE при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; * P < 0.05 и *** P < 0.001 спрямо контролите; ### P < 0.001 спрямо група Диметоат

В условията на проведения експеримент, логично диметоатът статистически достоверно понижава активността на плазмената ChE в сравнение с контролите (P < 0.05). Подобно на някои други проследени лабораторни показатели препоръчаната доза 1.5 mL/kg ЛЕ показва ефективност, което се изразява в двукратно нарастване на активността на ChE спрямо контролите. Вероятно това е резултат от противодействието на токсичните ефекти на органофосфата.

◆ Глюкоза

Промените в нивата на плазмената глюкоза при опитните животни, след приложение на ЛЕ, са показани на фигура 53.



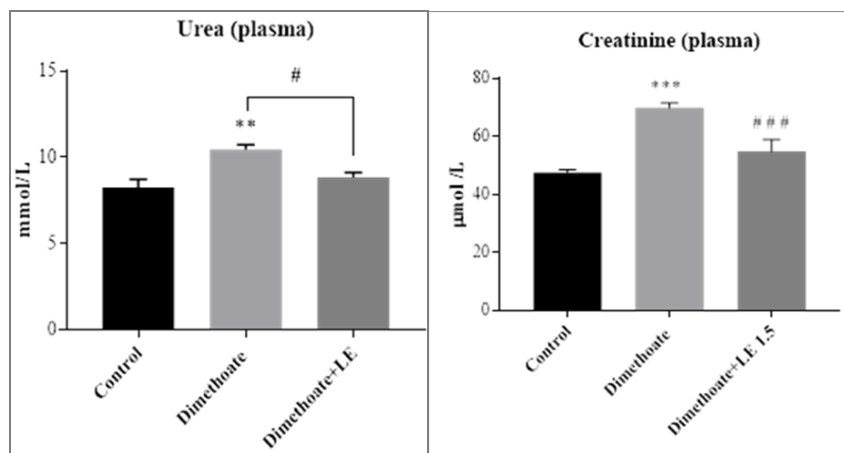
Фиг. 53. Нива на плазмената глюкоза при плъховете с ОЕИ с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 %; *** P < 0.001 спрямо контролите; ### P < 0.001 спрямо Диметоат

Референтният интервал на плазмената глюкозата при мъжки полово зрели Wistar плъхове е в границите 6.6 ÷ 13.7 mmol/L, като стойности на показателя до 11 се приемат за физиологично форсирани. При остра интоксикация нивата на кръвната захар се покачват над стресовите физиологични нива, тъй като черният дроб се нуждае от голямо количество енергия за метаболизирането на отровата, както и за защита на хепатоцита. Това се потвърждава и от лабораторните резултати при 2-ма от пациентите с ОЕИ с ФОП. Резултатите показват, че препоръчаната болус доза 20 % ЛЕ (1.5 mL/kg) възстановява кръвната захар нива при отровените с *диметоат* плъхове до нормата, при това с много висока статистическа достоверност спрямо групата, третирана само с *диметоат* (P < 0.001).

◆ Урея и креатинин

Уреята и креатининът са остатъчно азотни тела, формирани при белтъчния разпад, чиито референтни граници при мъжки полово зрели Wistar плъхове са, съответно 7.49 ÷ 10.49 mmol/L за урея и 42.96 ÷ 55.69 μmol/L – за креатинин. При остра интоксикация първо се повишава

съдържанието на урея в плазмата, което се свързва с физиологичния стимул на организма да елиминира отровата, докато промяната при креатинина настъпва малко по-късно, като проява на гломерулно увреждане (Фигури 54 и 55).



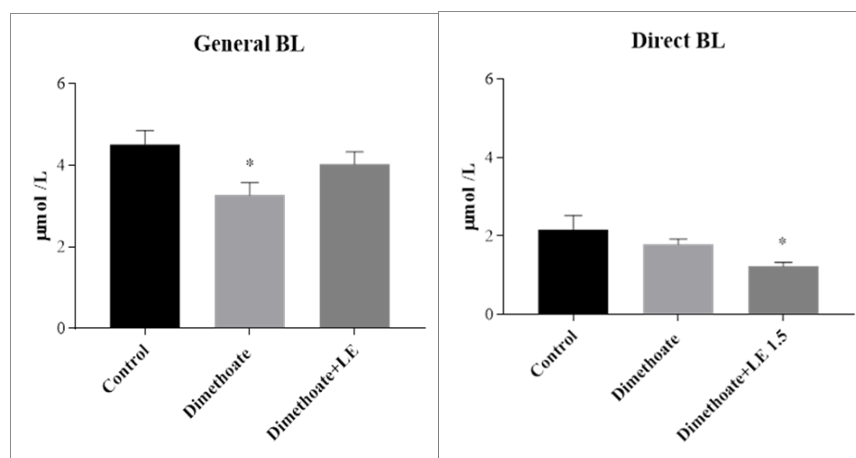
Фиг. 54 и 55. Нива на урея и креатинин при плъховете с остра интоксикация с диметоат, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** $P < 0.01$ спрямо контролите; *** $P < 0.001$ спрямо контролите; # $P < 0.05$ спрямо група Диметоат; ### $P < 0.001$ спрямо група Диметоат

След въвеждането на диметоата се наблюдава точно такава първоначално, статистически достоверно, повишение на уреята ($P < 0.01$) и на креатинина ($P < 0.001$) в сравнение с концентрациите при контролните гризачи. Тези резултати могат да се интерпретират като проява на нефротоксичността на органофосфатния инсектицид.

Приложената ЛЕ, в препоръчваната за лечение на ОЕИ в хуманната медицина, болус доза 1.5 mL/kg възстановява нивата на наблюдаваните показатели до стойности, близки до тези при контролите, понижавайки ги в сравнение със стойностите при групата без антидотно лечение, с нива на достоверност, съответно $P < 0.05$ за уреята и $P < 0.001$ за креатинина.

◆ Общ и директен билирубин

При попадане на токсичният агент в кръвния ток, част от еритроцитите се увреждат и в черния дроб се разграждат до билирубин, което е съпроводено с повишаване, както на общия, така и на директния билирубин и е показателно за увреждане на хемопоеичния апарат в костния мозък. Измерените нива на двата показателя при експерименталните плъхове са представени на фигури 56 и 57.



Фиг. 56 и 57. Нива на общ и директен билирубин при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; * $P < 0.05$ спрямо контролите

Повишените концентрации на общия билирубин, чиито референтни стойности са в обхвата $4 \div 7 \mu\text{mol/L}$, се свързват с остри отравяния, докато директният ($0.51 \div 1.03 \mu\text{mol/L}$) се повишава при по-продължително хронично токсично увреждане на черния дроб и разпад на клетки. Във връзка с това, липсата на повишение в нивата на билирубина (общ и директен) при плъховете, отровени с диметоат свързваме, от една страна, с големите компенсаторни възможности на черния дроб и от друга, с краткия експериментален протокол, базиран на етични съображения. Независимо от това, статистически значимото понижение на директния билирубин след приложението на ЛЕ в болус дозата 1.5 mL/kg в сравнение с контролите, насочва към хепатопротективен потенциал при по-продължителна експозиция на токсични агенти.

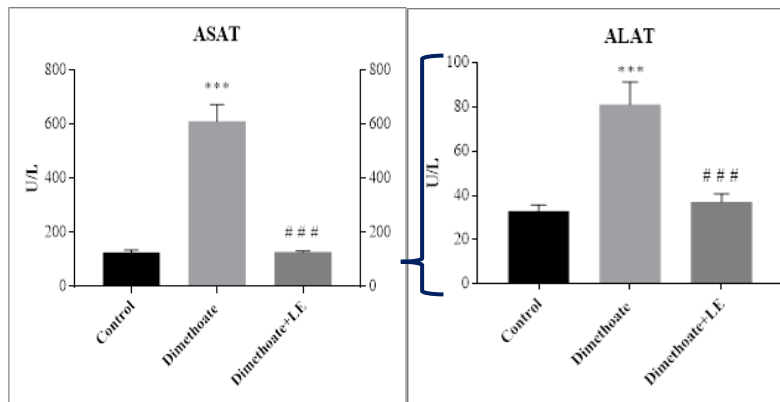
◆ Аспартат- и аланин-аминотрасферази и гама-глутамилтрансфераза

Известно е, че трансминазите ASAT и ALAT се откриват в най-голямо количество в черния дроб, поради което често се наричат „чернодробни ензими“. При увреждането му те навлизат в голямо количество от клетките и тъканите в кръвния ток, което повишава общото ниво на серумните ензими. При лабораторно изследване повишените им стойности се регистрират още в най-ранните стадии на увреждането, често преди появата на някакви симптоми и оплаквания. По тези причини се приема, че количеството на двата ензима в кръвта е пряко свързано със степента на тъканното увреждане. Повишени стойности на ALAT в кръвта с голяма вероятност насочват към чернодробно увреждане, тъй като почти цялото количество на ензима се намира в черния дроб. Повишението на ASAT е по-малко специфично за чернодробно увреждане, в сравнение с това на ALAT, защото освен в черния дроб, той се открива и в други органи – скелетни мускули, сърце, панкреас, далак (слезка). Установено е, че ензимът се променя и при увреждане на скелетни мускули, по-рядко – на сърдечния мускул (Кехайов, 2020). Съотношение на ASAT/ALAT > 1 е сигнал за кардиологичен инцидент с гладко-мускулни увреждания, при което паралелно нарастват стойностите на СК (креатинин киназа) и LDH (сърдечна фракция). Когато съотношението ASAT/ALAT е < 1 , паралелно се завишават LDH, ALP и GGT. Случаи, при които ALAT е с високи стойности от ASAT, се считат показателни за хепатално увреждане.

Според Kasarala и Tillmann (2016), нивата на аминотрансферазите ASAT и ALAT са ранни и чувствителни биомаркери за първоначално увреждане на черния дроб при отравяния с *диметоат*.

При плъхове, в експериментални условия, *диметоатът* в доза 200 mg/kg т.м., приложена интраперитонеално, предизвиква изразена чернодробна стеатоза, конгестия и некроза, съпроводени с увеличени нива на ASAT и ALAT.

В условията на нашия експеримент при плъховете, третирани с *диметоат*, стойностите на двата ензима нарастват с около 3 пъти спрямо тези при контролната група (Фиг. 58 и 59).



Фиг. 58 и 59. Нива на ASAT и ALAT при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; * $P < 0.001$ спрямо контролите; ### $P < 0.001$ спрямо група *Диметоат***

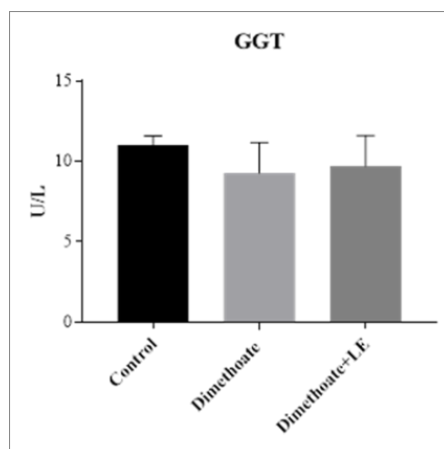
ЛЕ достоверно понижава активността на ASAT ($63 \div 175$ U/L) в сравнение с групата плъхове, инжектирани само с *диметоат*, доказателство за което е високата сигнификантност ($P < 0.001$). Стойностите на ALAT ($19 \div 48$ U/L) също следват подобна тенденция, със статистически достоверно намаление в активността при гризачите с приложената ЛЕ ($P < 0.001$).

Активността на ASAT е многократно повишена – около 6 пъти, в сравнение с тази на ALAT, като стойностите при отровените с *диметоат* плъхове са двукратно по-високи спрямо контролите. Резултатите потвърждават органопротективния потенциал на ЛЕ и са в съгласие с данните за кардиопротективен ефект на *Intralipid* при експериментална остра интоксикация с липофилни медикаменти, установен от Кехайова (2020).

Според нас категоричното понижение в активността на двете аминотрансферази при интоксикация с *диметоат*, след прилагането на мастната емулсия, е показател за наличие и на хепатопротективен потенциал на ЛЕ.

GGT е ензим, който се открива главно в бъбреците, черния дроб, панкреаса и в по-малко количество в други тъкани. Серумната GGT е основно с чернодробен произход, поради което е специфична за черния дроб и за жлъчните пътища. Високи нива на GGT се откриват при остри и хронични възпалителни заболявания на черния дроб и жлъчните пътища, при чернодробна цироза, автоимунни заболявания и туморни образувания, хронична консумация на алкохол, продължителен прием на някои лекарства и други.

Резултатите от лабораторното изследване са представени на фигура 60.

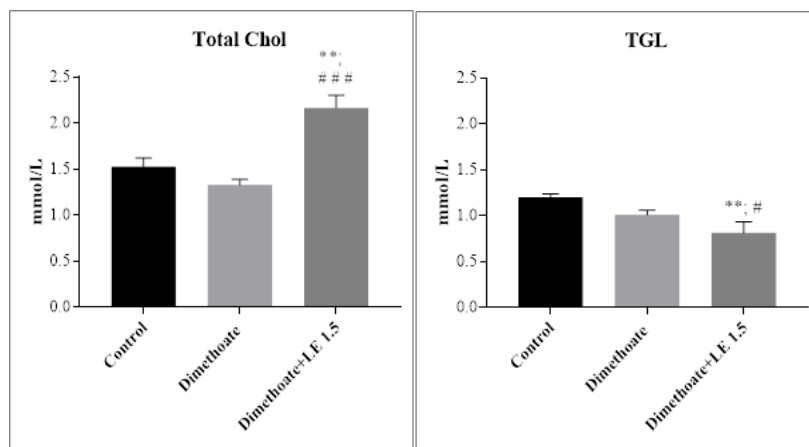


Фиг. 60. Нива на GGT при плъховете с остра интоксикация с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 %

Метаболизирането на *диметоата* (вещество с умерено висока токсичност) се извършва в черният дроб. В случая, във времеви отрязък преди въвеждането на ЛЕ или за по-малко от минута, органофосфатът навлиза в кръвния ток и проявява токсичността си. Липсата на измерими ефекти върху нивата на GGT се свързват с кратката продължителност на експеримента.

◆ Общ холестерол и триглицериди

Промените в концентрациите на холестерола и на триглицеридите са показани на фигури 61 и 62.



Фиг. 61 и 62. Нива на общ холестерол и триглицериди при плъховете с ОЕИ с *диметоат*, при които е приложена болус доза 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ; ** $P < 0.01$ спрямо контролите; # $P < 0.05$ и ### $P < 0.001$ спрямо група *Диметоат*

При интоксикация или възпалителен процес организмът се стреми да ограничи процеса чрез оформяне на защитна мембрана около проблемния участък от засегнатия орган или чрез „обвиване“ на органа с мастни плаки. Например след остър хепатит се развива стеатоза на черният дроб, което е опит за ограничаване на инфекцията.

Референтните граници за общ холестерол при мъжки полово зрели Wistar плъхове са $0.96 \div 2.46$ mmol/L. В случай на остра интоксикация се стимулира продукцията на холестерол, с цел справяне с пораженията от отравянето. ЛЕ, приложена като болус доза, потенцира този ефект и потвърждава свойството на мастните емулсии да повлияват уврежданията при остра интоксикация – повишението на общия холестерол е с висока статистическа достоверност в сравнение с това при плъховете, при които не е приложена ЛЕ ($P < 0.001$), като стойностите са в референтния обхват.

Триглицеридите (с референтни стойности $0.31 \div 1.81$ mmol/L) биха се повишили на един много по-късен етап на интоксикационния процес, като резултат от възникнали метаболитни нарушения, което обяснява нормалните стойности при острото отравяне с *диметоат*. В условията на проведения опит препоръчаната терапевтична болус доза от 1.5 mL/kg 20 % ЛЕ води до значимо понижение на показателя в плазмата в сравнение с групата, третирана само с *диметоат* ($P < 0.05$), което е показателно за способността на *Intralipid* да предотвратява по-късните симптоми на интоксикацията.

Лабораторните резултати показват, че след i.p. инжектиране на експерименталните плъхове с *диметоат* в избраната токсична доза 200 mg/kg, чернодробните ензими ASAT и ALAT се увеличават около 3 пъти спрямо стойностите при контролната група, което може да се интерпретира като проява на изразена органна токсичност. Метаболизирането на орнанофосфата, вещество с умерено висока токсичност, се извършва в черния дроб. Измерените концентрации на ASAT и ALAT показват, че диметоатът навлиза в кръвния ток във времеви отрязък преди въвеждането на ЛЕ, което означава, че проявява токсичността си за по-малко от минута. Тези резултати са в съответствие с проучването на Mirajkar and Pore (2005), според които абсорбцията на диметоата при бозайници е бърза, независимо от начина на приложение, след което също бързо се метаболизира в черния дроб, като скоростта на биотрансформацията и елиминирането варира при различните видове. Доказателство за това, че приложената на 1-та минута ЛЕ подобрява състоянието на опитните плъхове са стойностите на трансаминазите, които достигат тези на гризачите от контролната група и са в границите на референтния интервал. Заключениеето е, че в този случай *Intralipid* изключително ефективно проявява антидотните си свойства.

В заключение получените лабораторни резултати при експерименталните плъхове с остра диметоат-индуцирана интоксикация, показващи промените в стойностите на ChE, плазмената глюкоза, уреята, креатинина и на чернодробните трансаминази (ASAT, ALAT, GGT), са в съответствие с промените в показателите, установени при пациентите с тежки ОЕИ с ФОР, при постъпване за лечение в КИЛООР при ВМА – МБАЛ – Варна.

В. СРАВНЯВАНЕ НА ЕФЕКТИТЕ НА ЛИПИДНАТА ЕМУЛСИЯ ПРИ ХОРА И ПРИ ОПИТНИ ЖИВОТНИ С ОСТРА ИНТОКСИКАЦИЯ С ФОП

За да се установи дали данните от експерименталния модел при плъхове с диметоат-индуцирана токсичност позволяват екстраполация върху хората, са сравнени някои основни характеристики на острото екзогенно отравяне с фосфорорганични пестициди от клиничното проучване и от лабораторния експеримент.

1. Сравняване на ефектите на ЛЕ върху общата двигателна активност

Положителна корелация по отношение увреждането на двигателната активност е отчетена и в клиничните данни на постъпилите в КИЛООТ – ВМА – Варна пациенти с ОЕИ с пестициди и в частност с диметоат. Общият статус е изследван при хоспитализирането. При всички пациенти се наблюдават понижен мускулен тонус и намалена двигателна активност, а в някои от случаите са изявени също така парастезии и инконтиненция. Независимо, че промените в двигателната активност не са проследени в динамика в хода на интоксикацията, като фактор за състоянието на общата двигателна активност след приложението на ИЛЕ може да се разглежда самата дехоспитализация на пациентите, резултат на подобряване и стабилизиране.

При плъховете, в израз на предизвиканата остра токсичност, диметоатът уврежда общата двигателна активност, отчетена чрез намаляване на броя пресечени полета при Open field test. Статистически значимо понижение спрямо контролите се наблюдава, както при хоризонталната, така и при веритикалната активност ($P < 0.001$). При животните от групата с приложена ЛЕ, също се регистрира понижена двигателна активност. Това според нас потвърждава увреждащите ефекти на диметоата върху общата локомоция. Въведената болусна доза мастна емулсия не повлиява отчетливо промените на изследвания показател, което означава отсъствието на положителни ефекти върху периферната нервна система на ниво нервно-мускулно предаване.

2. Сравняване на ефектите на ЛЕ върху ЦНС

Обнибулацията е най-леката степен на потискане на съзнанието при пациентите в количествен аспект и сама по себе си не е индикация за прилагане на ИЛЕ. Предвид животозастрашаващия потенциал на токсичните агенти, обаче, стандартната антидотна терапия проведена в комбинация с ИЛЕ, е обоснована дори и при най-леки симптоми на потиснато съзнание. При пациентите с остра ОФ интоксикация потискането на съзнанието е съпроводено и с анамнестични данни за поглъщане на голяма доза пестицид, което налага венозно включване на ЛЕ в лечебната схема.

Данните за изследователската активност при опитните гризачи с индуцирана от диметоата остра токсичност позволяват да се оцени състоянието на ЦНС-функцията. Подобриенето непосредствено след въвеждането на ЛЕ е проявено чрез трикратно

нарастване на показателя (брой проучени дупки по пода на постановката) в сравнение с този при плъховете, които не са третирани с мастна емулсия, като на 20-та минута е регистрирано повишение от 72 %.

3. Сравняване на ефектите на ЛЕ върху вегетативните функции в ЦНС (проследяване дихателната и сърдечната честота)

Промените в дихателната и сърдечната честота са показателни за токсични ефекти върху вегетативните функции в ЦНС.

Един от характерните животозастрашаващи симптоми при тежко остро отравяне с ФОП, съпътстващ потиснатите ЦНС-функции, е сърдечната токсичност. При пациенти с ОФ отравяне в израз на увредени вегетативни функции, се проявява тахипнея (повърхностно и учестено дишане) и брадикардия (понижена честота на сърдечните контракции). Интравенозна мастна емулсия е включена в лечението на по-тежките форми на интоксикация. Анализът на клиничните данни и на случаи от наличните в литературата единични съобщения показват, че ИЛЕ в качеството на антидот демонстрира ефективна невро- и сърдечно-съдова протекция при ОЕИ с ФОП.

При отровените с диметоат опитни гризачи се наблюдава потискане на сърдечната честота, подобно на ефектите при хора, докато за разлика от проявените клинични симптоми при пациентите, дихателната честота е понижена. Това може да се свърже и с действието на използвания за седация Midazolam. Въведената ЛЕ възстановява състоянието на двете вегетативни функции до това при контролните животни с висока степен на статистическа достоверност ($P < 0.001$), което потвърждава положителните ефекти на ИЛЕ по отношение на дихателната и сърдечната честота

Сравнението с клиничните данни показва, че при експерименталните плъхове с индуцирана от диметоат остра интоксикация, при които е приложена ЛЕ, се наблюдава възстановяване на тези функции с много висока степен на значимост в сравнение със здравите контроли, докато при пациентите с остри интоксикации с пестициди, включително ФОП, ИЛЕ не повлиява така отчетливо промените в сърдечната и дихателната честота. Различието може да се обясни с това, че при пациентите сърдечната честота се определя основно от антидотното лечение с атропин, а дихателната честота зависи от тежестта на интоксикацията, респективно от наличието на дихателни усложнения като белодробен оток, интермедиерен синдром, пневмонии и други.

В заключение резултатите от проучването показват, че мастната емулсия слабо повлиява периферното нервно-мускулно предаване при плъховете с диметоат индуцирана невротоксичност, като ефектите са по-ясно изразени в посока подобряване на вегетативните функции на ЦНС. Установените протективни ефекти спрямо двете вегетативни функции и върху изследователското поведение, както и отсъствието на позитивен ефект върху общата двигателна активност (периферно нервно-мускулно предаване), насочват към наличие на невропротективни свойства на мастната емулсия, локализиращи в ЦНС.

4. Сравняване на ефектите на ЛЕ върху преживяемостта

Въпреки навременните и адекватни методи на лечение леталитетът при остри интоксикации с ФОП и в частност с диметоат остава висок, поради което тези случаи са предизвикателство за клиничната токсикология.

Ефективността на ЛЕ при ОЕИ с пестициди е определена чрез отчитане на преживяемостта.

При анализа на клиничните данни е установено, че в групата пациенти, лекувани без липидна емулсия ($n = 16$) смъртността е 50 %, а в групата с ИЛЕ ($n = 4$) е починал 1 пациент (25 % от случаите). Изчисленият коефициент на риска (рисков фактор) за летален изход, при пациентите с ОЕИ с пестициди, включително ОФ, при които не е включена ИЛЕ е 2.

При опитните плъхове диметоатът статистически достоверно намалява преживяемостта в сравнение с контролите ($P < 0.01$). В потвърждение, както на ефективността, така и на безопасността, въведената ЛЕ води до запазване на виталитета на всички гризачи за периода на наблюдението, като установеният достоверен ръст в показателя в сравнение с групата, при която не е приложена ЛЕ, е с висока сигнификантност ($P < 0.01$).

Проблемът на екстраполацията между животински видове и хората, е по принцип съществен. Екстраполацията на токсикологичните данни, получени в експеримент с животни, върху човека е все още нерешен изцяло въпрос в токсикологията, независимо, че данните от последните години позволяват да се твърди, че в повечето случаи токсичните ефекти, наблюдавани при животни, с голяма вероятност могат да се проявят при хора.

Според нас установените несъвпадения между част от клиничните данни и експерименталните резултати се дължат най-вече на видовите различия и свързаните с тях различен обем на разпределение на ксенобиотиците, особености в активността на отделни плазмени ензими, както и метаболизма на токсичната нокса. В случая, освен по-бързия метаболизъм при плъховете, като допълнителен фактор може да се отчете и липсата на корелация между възрастта на опитните гризачи и пациентите – експериментът е проведен с млади и здрави животни, докато пациентите с остри интоксикации с органофосфати са на възраст > 60 години и с придружаващи заболявания, които също оказват влияние върху тежестта на интоксикацията, респективно протичането и изхода.

V. ИЗВОДИ

ИЗВОДИ ОТ ПРОУЧВАНЕ НА КЛИНИЧНИТЕ ДАННИ

1. Острите медикаментозните интоксикации с изследваните фармакологични групи (BDZ и АЕ) бележат трикратно по-висока честота при жените, за разлика от отравянията с пестициди, които преобладават при мъжкия пол.
2. Средната възраст на пациентите с ОЕИ с BDZ е по-голяма от тази при групата с АЕ, където преобладават отравянията при пациентите до 45 години. Интоксикациите с пестициди са характерни за най-възрастните пациенти (> 60 г.).
3. Водеща причина за ОЕИ при изследвания контингент са суицидните опити. При BDZ с най-висока честота са отравянията с Clonazepam, Bromazepam и Diazepam. При АЕ голямата част от случаите са свързани с предозиране на Valproic acid, следвани от Carbamazepine. При пестицидите 45 % от случаите са резултат от прием на органофосфати, 40 % – на синтетични пиретроиди и по 5 % – на бромадиолон и на смесена интоксикация (пиретроид и ОФ).
4. Коморбидността при ОЕИ с BDZ е от страна на ЦНС и ССС, при отравянията с АЕ преобладават заболявания на ЦНС, а при тези с пестициди, водещи са сърдечно-съдовите патологии.
5. Критерий за включване на ИЛЕ при ОЕИ с невротоксични медикаменти и с пестициди са тежка клинична картина и/или прием на високи дози токсикант, съчетани или не, със сериозни съпътстващи заболявания и при критично състояние с висок риск от бързо прогресиране до смърт.
6. При всички разглеждани етиологични групи ИЛЕ е избор на лечение приоритетно при симптоматика от страна на ЦНС.
7. При остри медикаментозни интоксикации ИЛЕ се прилага по преценка на лекуващия лекар при по-тежките случаи на потиснато съзнание – сомнолентност, сопор и кома, докато при ОЕИ с пестициди, поради високия токсичен потенциал на ноксата, ИЛЕ се включва в терапията още при първите симптоми на потиснато съзнание – обнибулация (75 %).

ИЗВОДИ ОТ ЛАБОРАТОРНИЯ ЕКСПЕРИМЕНТ

1. Препоръчаната в хуманната медицина за антидотно лечение на ОЕИ болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ не повлиява увредената обща двигателна активност при плъховете с придизвикана от диметоата остра токсичност.
2. Подобрението в изследователското поведение при гризачите е проявено непосредствено след въвеждането на ЛЕ чрез трикратно нарастване на показателя, като на 20-та минута той е повишен със 72 %.
3. Липидната емулсия възстановява потиснатите дихателна и сърдечна честота при плъховете до стойности близки до тези при контролите, с по-бързо се повлияване на дихателната честота. Установените протективни ефекти спрямо двете вегетативни функции и върху изследователското поведение, както и отсъствието на позитивен ефект върху общата двигателна активност (периферно нервно-мускулно предаване), насочват към наличие на невропротективни свойства на мастната емулсия, локализиращи в ЦНС.

4. Болус дозата 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ достоверно възстановява повишените от органофосфата нива на плазмената глюкоза и на тоталния холестерол, което предполага органопротективен потенциал.
5. Липидната емулсия проявява нефро- и хепатопротекция, изразена чрез достоверно възстановяване на повишените от токсичния агент концентрации на уреята и на креатинина, както и на активността на трансминазите ASAT и ALAT.
6. Болус дозата 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ ефективно повлиява основния токсичен механизъм на ФОП – блокиране на холинестеразната активност. Повишението в стойностите на ензима може да се интерпретира като проява на антидотното действие на масната емулсия.
7. Липидната емулсия демонстрира позитивни ефекти и спрямо леталитета. Стандартната доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ осигурява 100 % преживяемост на експерименталните плъхове.

VI. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. За първи път у нас е направен подробен литературен обзор върху възможността за прилагането на ЛЕ като антидот при остри интоксикации с липофилни ксенобиотици, проявяващи невротоксично действие – лекарствени продукти от групата на бензодиазепините и антиепилетиците, и пестициди, с акцент върху широко използвания органофосфатен инсектицид диметоат, причина за най-честите отравяния с тези съединения.
2. За първи път у нас са проведени изследвания върху невропротективния потенциал на ЛЕ при остри отравяния с медикаменти с невротоксични свойства и ОФ пестициди, в частност диметоат, като за период от 10 години е проследена динамиката и честотата на случаите, и прилагането на ЛЕ в допълнение на антидотната терапия.
3. За първи път у нас е анализирана ефективността на ИЛЕ при ОЕИ с проучваните вещества при отчитане съпътстващите заболявания и усложненията в хода на терапията, продължителността на болничния престой и смъртността.
4. За първи път у нас в *in vivo* експериментален модел на индуцирана с диметоат остра интоксикация при опитни плъхове е проучен протективния ефект на препоръчаната в хуманната медицина болус доза 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ чрез изследване промените в общата двигателна активност и изследователското поведение.
5. За първи път у нас при експериментални условия *in vivo*, чрез проследяване на дихателната и сърдечната честота при опитни плъхове, е потвърден невропротективния потенциал на липидната емулсия.
6. За първи път у нас при експериментални условия *in vivo* е оценена ефективността липидната емулсия чрез измерване на клиничко-лабораторни показатели, свързани с основни жизнени функции. Установени са нефро- и хепатопротективни свойства.
7. Регистрираната 100 % преживяемост при опитните плъхове с индуцирана от диметоат токсичност демонстрира безопасното използване на мастната емулсия, приложена в болус дозата 1.5 mL/kg 20 % ИЛЕ, препоръчана в хуманната медицина за антидотно лечение на ОЕИ, в т. ч. с органофосфати.
8. Както клиничното, така и експерименталното проучване върху антидотните свойства на ЛЕ при остри екзогенни интоксикации с някои липофилни ксенобиотици, проявяващи предимно невротоксично действие (бензодиазепини, антиепилептични лекарствени продукти и пестициди, в т. ч. ФОП), може да бъде принос в посока подобряване качеството и ефективността на терапията при пациенти с индуцирани токсични неврологични увреждания.

VII. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И УЧАСТИЯТА В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

ПУБЛИКАЦИИ

1. Marinov P, Ivanov D, Zlateva Sn, **Dimitrova S**, Kehayova G, Radeva M. Intravenous lipid infusion in toxicological practice. Scripta Scientifica Pharmaceutica, 2018; 5 (1). Medical University of Varna, p. 40 - 46.
2. P. Marinov P, D Ivanov D, Sn Zlateva Sn, **Dimitrova S**, Kehayova G, Radeva M, Stoeva St. Intravenous lipid emulsion in acute intoxication with fenitrothion. Scripta Scientifica Pharmaceutica, 2018; 5 (1). Medical University of Varna, p.47-50.
3. **Dimitrova S**, Kehayova G, Marinov P. The role of lipid emulsion in organophosphorus pesticide poisoning in clinical practice. Scripta Scientifica Pharmaceutica, 2019;6 (2). Medical University of Varna, p.42-45.

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. **Simeonka Dimitrova**. Липидни емулсии за лечение на интоксикации, Симпозиум „Проф. Александър Монов – 28 години клинична токсикология във ВМА – МБАЛ – Варна“, 10.12.2018, ВМА – МБАЛ – Варна, устен доклад.
2. **Simeonka Dimitrova**, Gabriela Kehayova, Dilijana Veselinova. Clinical application of intravenous lipid emulsions in intoxication with xenobiotics, 5-ти Фармацевтичен бизнес-форум с научно-практическа конференция, Варна, България, 26 - 28 Октомври 2018, *Abstract: Scripta Scientifica Pharmaceutica*, 2018, 5 (1). Medical University of Varna, P-18.
3. **Simeonka Dimitrova**, Maya Radeva, Gabriela Kehayova, Nadezhda Hvarchanova, Petko Marinov, Yulichka Sabeva, Marieta Georgieva, Kaloyan Georgiev. Neuroprotective effect of resveratrol. 26-th Annual Assembly, International Medical Association Bulgaria, Варна, к.к. Златни пясъци, хотел „Адмирал“, 12 - 15 май 2016.