

ОСТРЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ БАРБИТУРАТАМИ И ИХ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

*Борисевич С. Н., Вергун О.М. *, Шмигельский А.А. ***

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

**Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск*

***Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск*

Лекарственные препараты производные барбитуровой кислоты применяются как седативные и снотворные средства с наркотическим типом действия; фенobarбитал, кроме того, является эффективным противосудорожным препаратом. За последнее время использование их в качестве снотворных средств уменьшилось в связи с широким применением анксиолитиков бензодиазепинового ряда.

Барбитураты обладают ГАМК-миметическим механизмом действия. Они взаимодействуют с аллостерическим участком ГАМК_A-бензодиазепин-барбитуратного рецепторного комплекса и повышают аффинитет ГАМК к ГАМК_A-рецепторам. Это приводит к более длительному открыванию в нейрональных мембранах каналов для ионов хлора и увеличению их поступления в клетку. При этом тормозной эффект ГАМК усиливается.

Вводят барбитураты внутрь, реже – ректально. Они хорошо всасываются из желудочно-кишечного тракта, частично связываются с белками плазмы крови, легко проникают через тканевые барьеры, выделяются почками.

Продолжительность снотворного действия применяемых барбитуратов соответствует примерно 8 часам. Разная продолжительность действия препаратов зависит от скорости их выведения почками и от перераспределения веществ в организме в зависимости от липофильности и проявляется в степени кумуляции и выраженности последствия (после

пробуждения – ощущение вялости, разбитости, нарушение внимания и психомоторных реакций).

Непрерывное длительное применение барбитуратов приводит к развитию привыкания и может быть причиной психической и физической лекарственной зависимости. В соответствии с [1] барбитураты относятся к опасным психотропным веществам. Критерием отнесения комбинированных лекарственных средств, содержащих фенобарбитал, к психотропным веществам, подлежащим государственному контролю в нашей стране, является содержание фенобарбитала в количестве 20 мг и более на одну дозу, или более 2% в одной индивидуальной упаковке – для недозированных лекарственных средств [2]. При более низком содержании барбитурата в лекарстве (корвалол, валокордин и др.) последнее отпускается в аптеке без рецепта.

Нередки случаи острых отравлений барбитуратами. В специализированные центры по лечению отравлений с этой патологией поступает не менее 20-25% пациентов, и они составляют примерно 3% всех смертей от интоксикаций. О частоте отравлений детей препаратами барбитурового ряда в разных странах - неодинаковые сведения. Отравления барбитуратами возникают чаще всего в результате случайной или преднамеренной передозировки препаратов, реже – при взаимодействии их с другими лекарственными веществами или этиловым спиртом, а также из-за изменения фармакокинетики снотворных средств при патологии печени и почек. В зависимости от концентрации в крови пациентов выделяют 3 степени отравления барбитуратами: легкая (от 60 до 300 мкг/л), средняя (от 300 до 600 мкг/л), тяжелая (свыше 600 мкг/л). Е.А.Лужников с соавторами считают, что смертельным может быть одномоментный прием 10 терапевтических разовых доз барбитурата. Смертельные дозы барбитуратов для детей в литературе не называют. Однако обычная снотворная доза для взрослого может вызвать тяжелое отравление ребенка раннего возраста [3].

Отравления барбитуратами характеризуются симптоматикой, сходной с отравлениями наркотиками, клофелином, производными фенотиазина, что затрудняет диагностику [4-6]. Решающее значение в экспертной оценке таких отравлений имеют результаты химико-токсикологического исследования.

Для скринингового определения барбитуратов в биологических жидкостях используются иммунохимические методы исследования, оценивающие общее содержание представителей этой группы соединений (иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, поляризационный ферментный иммуноанализ). Они имеют отрицательное токсикологическое значение [7]. В рутинном химико-токсикологическом анализе применяется метод комплексного сочетания тонкослойной хроматографии (ТСХ) и УФ-спектрофотометрии, постепенно заменяющийся хроматомасспектрометрическим (ГХ/МС) по мере совершенствования аппаратной базы лабораторий.

При проведении ТСХ исследуется кислый экстракт биожидкости. Для хроматографирования используются как общие, так и частные для барбитуратов системы растворителей: бензол-этилацетат (2:1), хлороформ-изопропанол-аммиак (5:5:1) и другие. Классические реагенты для проявления – сульфат ртути в серной кислоте и дифенилкарбазон. Образующееся сине-фиолетовое окрашивание пятен, по R_f совпадающих со стандартами, свидетельствует о присутствии барбитуратов. Количественное определение производных барбитуровой кислоты основано на измерении разности оптической плотности щелочного раствора барбитурата (в боратном буфере) при двух значениях pH: pH 13 и pH 10 при длине волны 260 нм [7,8]. ГХ/МС определение проводят в элюатах с ТСХ-пластин по нативным соединениям или дериватам [9].

В литературе описаны и другие хроматографические методы анализа производных барбитуровой кислоты в биожидкостях. Определение может проводиться методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) на жидких фазах типа SE-30 или OV-17, но выполнение такого определения обычно

осложняется адсорбцией барбитуратов на твердом носителе. Для преодоления этого предлагается подвергать носитель кислотной инактивации или проводить алкилирование барбитуратов, что затрудняет исследование. Используют ступенчатый температурный режим колонки (200°C для барбитала, барбамила, нембутала, 230°C – для фенобарбитала) или другие варианты программирования. Для подготовки пробы в образец вводят 0,25 моль/л раствор серной кислоты, столько же очищенного хлороформа, встряхивают и центрифугируют при 8000 об./мин. На анализ отбирают 1-5 мкл хлороформного извлечения [10].

Для анализа барбитуратов может быть использован также метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). При этом используется колонка с обращено-фазовым сорбентом типа C₁₈, подвижная фаза: смесь ацетонитрил - вода очищенная (35:65) или смесь 0,05 моль/л водный раствор двузамещенного фосфата аммония – метанол (60:40); детектирование в УФ-свете при 220 нм или 240 нм. Подготовка пробы к анализу включает осаждение белков 40% раствором перхлоруксусной кислоты и центрифугирование [11], или экстракцию хлороформом, смесью хлороформ-изопропанол или эфиром, упаривание и растворение в подвижной жидкой фазе [7]. Однако из-за многопроцедурности ГЖХ и ВЭЖХ они редко используются при проведении химико-токсикологического исследования барбитуратов.

В нашей стране за период с 2004 по 2008 г.г. наблюдался подъем числа острых отравлений барбитуратами, вероятно, из-за доступности комбинированных лексредств, содержащих фенобарбитал, широким слоям населения. В 2009 г. произошло снижение числа отравлений из-за усиления контроля продажи таких лекарств в аптеках. Число отравлений препаратами бензодиазепинового ряда за этот период снижалось в связи со строгим учетом назначения и продажи этих препаратов (рис.1). В детской практике также наблюдается тенденция к снижению числа острых отравлений барбитуратами (рис.2).

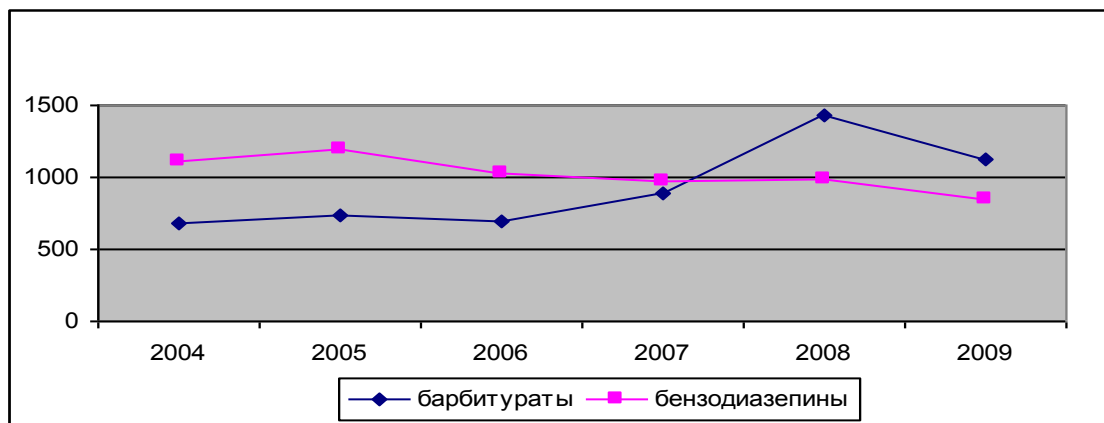


Рис.1. Количество пациентов, поступивших в УЗ «ГКБСМП» с диагнозом «острое отравление» барбитуратами и бензодиазепинами за период с 2004 по 2009 г.г.

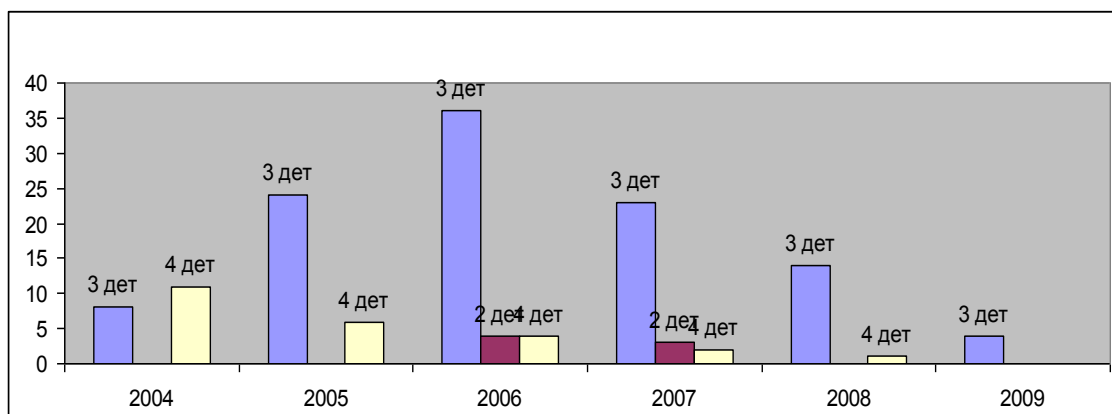


Рис.2. Количество выполненных исследований на наличие барбитуратов для детских клиник №№ 2,3,4 г. Минска

Целью проведённого нами исследования явилась оценка выявляемости острых отравлений барбитуратами по Минску и характера таких отравлений.

Материалы и методы

Обследована группа пациентов, поступивших с предварительным диагнозом «Острое отравление барбитуратами» в Республиканский токсикологический центр по лечению острых отравлений химической этиологии УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в течение первого полугодия 2009 г. В состав основной группы включены 657 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет. Биологическим

материалом для лабораторных исследований явились кровь и моча пациентов.

Результаты и обсуждение

Взятие биологического материала осуществляли не позднее, чем через час после поступления больного в отделение. Исследование биоматериала проводилось в течение 2 часов после отбора. Указанный диагноз подтвержден данными методов иммуноферментного анализа (при наличии тест-полосок производства РФ) и/или ТСХ (предварительные методы), и методом газовой хроматомасспектрометрии на приборе «Agilent 6890N», США (подтверждающий метод).

При исследовании предварительными методами из 657 случаев диагноз отравления барбитуратами подтвердился у 523 пациентов, что составляет 79%. Дальнейшее количественное исследование биожидкости методом газовой хроматомасспектрометрии позволило подтвердить диагноз «острое отравление фенobarбиталом» у 522 пациентов ($\approx 100\%$) и дифференцировать степень отравления.

Как видно из диаграммы (рис. 3), чаще с острым отравлением барбитуратами поступают мужчины – 68% в исследуемой группе, число пациентов женщин - вдвое ниже и составляет 32%.

При анализе причин отравлений и их степени оказалось, что в подавляющем большинстве случаев это - злоупотребление с целью получения барбитурового опьянения, при этом, пациенты с легкой степенью отравления составляют 15%, средней – 51%, а тяжелой – 34% от всех поступивших больных (рис. 4).

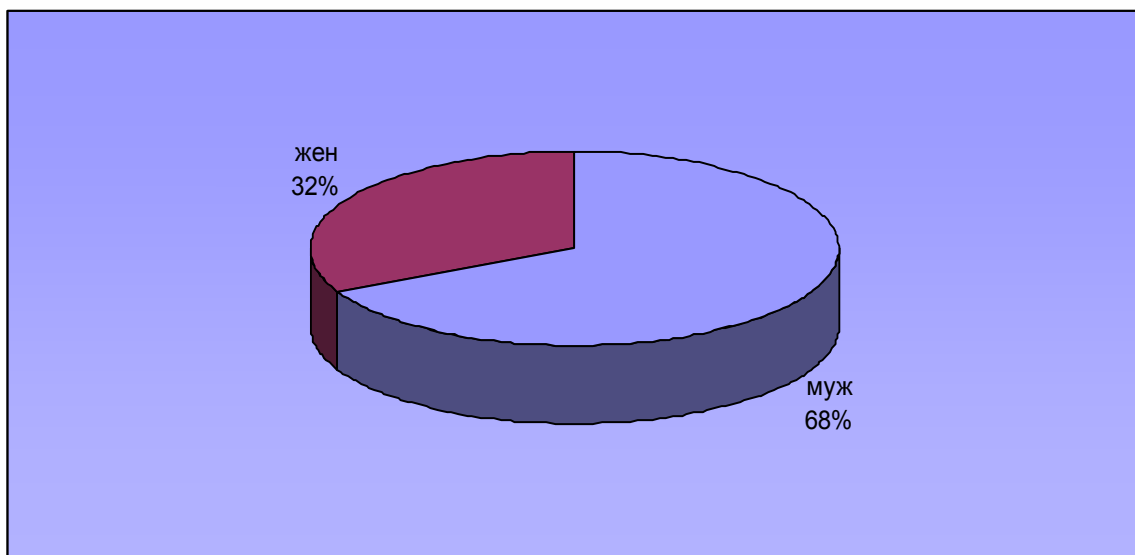


Рис. 3. Распределение отравлений барбитуратами по полу

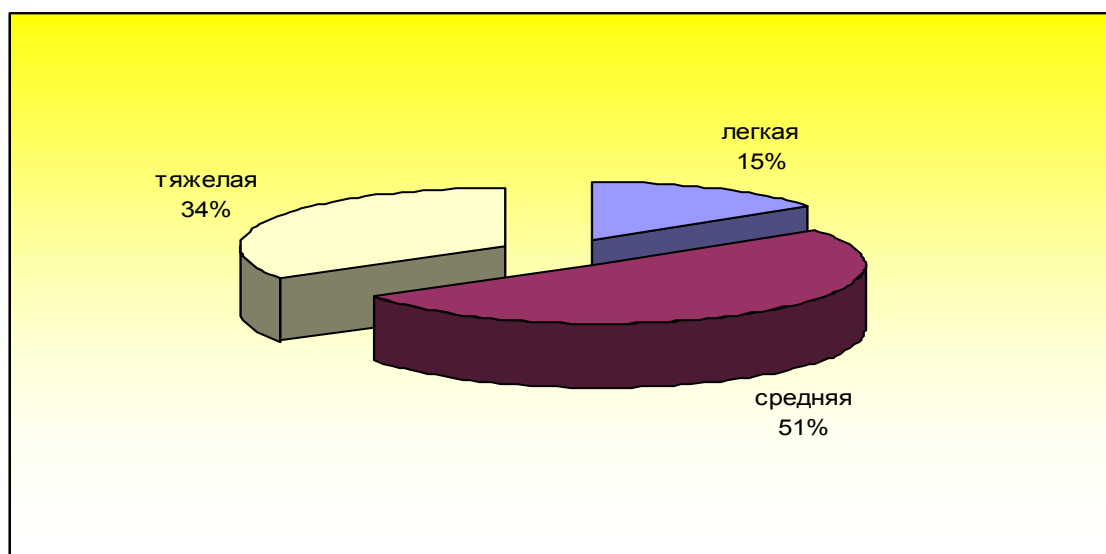


Рис. 4. Распределение пациентов по степени отравления: легкая (от 60 до 300 мкг/л), средняя (от 300 до 600 мкг/л), тяжелая (свыше 600 мкг/л)

Особенностью химико-токсикологического анализа содержания барбитуратов является значительное колебание уровня их токсических концентраций в биожидкостях и тканях организма. Это вызывает необходимость применения высокочувствительных и селективных физико-химических методов анализа, к числу которых относится хроматография (ТСХ, ГХ/МС), а также иммунохимических методов.

Современные иммунохимические методы анализа наркотических и психотропных средств отличаются высокой чувствительностью, специфичностью, простотой исполнения, позволяют одновременно анализировать большое число проб, не требуют дополнительной или специальной очистки пробы или концентрирования и поэтому очень удобны для скрининг диагностики. В Российской Федерации выпускаются готовые коммерческие наборы реагентов для иммуноферментной скрининг-диагностики основных классов одурманивающих средств с гарантированным пределом их обнаружения 300-500 мкг/л [6]. Для отечественных лабораторий импортные тест-системы являются дорогостоящими, и актуальной задачей является разработка отечественных диагностикумов для иммуноферментного исследования, с более высокой диагностической чувствительностью. Это направление анализа обеспечит снижение материальных и временных затрат на определение барбитуратов и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

З а к л ю ч е н и е

1. К настоящему времени в нашей стране сложилась тенденция снижения числа острых отравлений барбитуратами. Превалируют отравления средней тяжести из-за немедицинского применения барбитуратов с целью получения барбитурового опьянения, преимущественно – у мужчин.

2. Используемые в настоящее время в химико-токсикологической службе методы анализа биоматериала на наличие барбитуратов являются чувствительными, высокоспецифичными и надежными, однако требующими процедуры пробоподготовки и дорогостоящими. Перспективным с нашей точки зрения является метод иммуноферментного анализа. Это направление анализа может обеспечить снижение материальных и временных затрат на определение барбитуратов и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Постановление МЗ РБ от 28 мая 2003 г. № 26 «Об утверждении республиканского перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю в Республике Беларусь».
2. Постановление МЗ РБ от 31 июля 2009 г. № 89 «О критериях отнесения комбинированных лекарственных средств, содержащих наркотические средства и психотропные вещества, к наркотическим средствам и психотропным веществам, подлежащим государственному контролю в Республике Беларусь, и внесении изменений и дополнений в постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28 мая 2003 г. № 26».
3. Клиническая токсикология детей и подростков: под ред. Марковой И.В., Афанасьева В.В., Цыбулькина Э.К., Неженцева М.В. - Санкт-Петербург, «Интермедика», 1998. – 304 с.
4. Вольграм Е.Н., Ходасевич Т.А. // Суд.-мед. экспертиза. – 1990. - №4. – С. 47 - 49.
5. Борисевич С.Н., Вергун О.М. // Здравоохранение. – 2010. - № 2. – С. 51 -53.
6. Камышников В.С., Игумнов С.А., Чубуков А.М., Вергун О.М. и др. // Отравления наркотическими средствами, действующими на опиоидные рецепторы. Клиническая и лабораторная диагностика. – Минск, «Адукацыя», 2010. – 63 с.
7. Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств. – М., «Мысль», 1993. – 268 с.
8. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание: под общ. ред. Изотова Б.Н. // метод. указания. – М., 1989. – 122 с.
9. Элленхорн М. Дж. Медицинская токсикология. Диагностика и лечение отравления у человека: в 2т. / Пер. с англ. – М.: Медицина, 2003. – Т.1. – 1036 с.

10. Clarke E.G.C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceutical, Body Fluids and Post-Mortem Material. – London, «The Pharm. Press». – 1986.

11. Лисовик Ж.А. Лабораторно-химический контроль при лекарственных отравлениях // В сб.: Острые отравления лекарственными веществами. – М., 1992. – С. 64-72.

Резюме

Целью исследования явилась оценка выявляемости острых отравлений барбитуратами по г.Минску и характера таких отравлений.

Обследована группа пациентов, поступивших с предварительным диагнозом «Острое отравление барбитуратами» в Республиканский токсикологический центр по лечению острых отравлений химической этиологии психических больных УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в течение первого полугодия 2009 г. В состав основной группы вошли 657 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет. Биологическим материалом явилась кровь и моча пациентов. Указанный диагноз подтвержден данными методов иммуноферментного анализа и ТСХ (предварительные методы), и методом газовой хроматомасспектрометрии на приборе «Agilent 6890N», США (подтверждающий метод).

Используемые в настоящее время в химико-токсикологической службе методы анализа биоматериала на наличие барбитуратов являются чувствительными, высокоспецифичными и надежными, однако требующими процедуры пробоподготовки и дорогостоящими. Перспективным с нашей точки зрения является метод иммуноферментного анализа. Это направление анализа может обеспечить снижение материальных и временных затрат на определение барбитуратов и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

BARBITURATES ACUTE INTOXICATIONS AND THEIR LABORATORY DIAGNOSIS

*S.N. Borisevitch, O.M. Viarhun *, A.A. Shmigelskij ***

Belarusian State Medical University, Minsk

** Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk*

*** City Clinical Hospital of the First Help, Minsk*

The resume

Research objective was the estimation of detectability of sharp poisonings barbiturates on to Minsk and character of such poisonings.

The group of the patients who have arrived with the preliminary diagnosis «the Sharp poisoning barbiturates» in the Republican toxicological centre on treatment of sharp poisonings of a chemical aetiology of mental patients «City clinical hospital of the first help» during the first half of the year 2009. In structure of the basic group is survived 657 patients at the age from 18 till 60 years have entered. A biological material was blood and urine of patients. The specified diagnosis is confirmed by data of immune enzyme assay methods and TLC (preliminary methods), and a method (GC/MS) on the device «Agilent 6890N», USA (a confirming method).

Now in use in chemical-and-toxicological service methods of the analysis of a biomaterial on presence barbiturates are sensitive and reliable, however demanding procedure test preparations and expensive. From our point of view the method immune enzyme assay the analysis is perspective. This direction of the analysis can provide decrease in material and time expenses for definition of the barbiturates and other stupefying substances in samples of various types.

Борисевич С. Н., Вергун О.М., Шмигельский А.А. Лабораторная диагностика острых отравлений барбитуратами / Здравоохранение, 2011, №4, с.52-55.