

Ховпачев А.А.¹, Скиба Я.Б.², Вахвияйнен М.С.³, Иванов И.М.³, Луцык М.А.¹, Башарин В.А.¹

Электрокортикографические паттерны и динамика их изменения у морских свинок при острой печёночной энцефалопатии, вызванной β-аманитином

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, Санкт-Петербург, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Токсическое действие β-аманитина сопряжено с острой церебральной недостаточностью, обуславливающей тяжесть состояния при неблагоприятном течении фаллоидинового синдрома.

Цель — экспериментальное изучение динамики биоэлектрической активности коры мозга морских свинок с печеночной энцефалопатией, вызванной β-аманитином.

Материал и методы. Исследование выполнено на 13 морских свинках с вживлёнными в череп эпидуральными электрокортикографическими датчиками на 9 электродов. Животным внутривенно вводили β-аманитин высокой степени чистоты в дозе 3 ЛД₅₀ (2,7 мг/кг). В динамике ежесуточно оценивали биоэлектрическую активность мозга посредством логического и спектрального анализа электрокортикограмм. Выполняли патоморфологическое макро- и микроскопическое исследование погибших животных.

Результаты. Получена модель крайне тяжёлого отравления морских свинок β-аманитином в дозе 3 ЛД₅₀ с медианой продолжительности жизни 4,5 сут, 100% вероятностью возникновения терминальной комы и гибели. На вскрытии наблюдали общую атрофию, при микроскопии — отёк мозга и некроз печени. При электрокортикографическом мониторинге установлены варианты нормальной мозговой активности свинок. После введения β-аманитина установлен стадийный процесс ускорения с последующим замедлением мозговой активности до персистирующего ригидного тета-ритма, его дальнейшего угнетения с формированием паттернов распада. Выявлено наличие характерных для гепатаргии волн трифазной морфологии, которые регистрировали, как правило, на 2–3-и сутки после начала эксперимента. При спектральном анализе снижение доминирующей частоты и спектрального края ритма начиналось на 1-е сутки интоксикации, достигая на 5-е сутки четырёхкратного падения в сравнении с фоном.

Ограничения исследования. Изменения электрической активности коры головного мозга животных анализировали только после однократного введения β-аманитина в дозе 3 ЛД₅₀ — полученные данные могут отличаться при иных условиях эксперимента.

Заключение. Электрокортикография пригодна для объективизации гепатаргии у морских свинок с высоким трансляционным потенциалом экстраполяции данных на человека. Установлены характерные изменения для тяжёлой энцефалопатии вследствие интоксикации β-аманитином.

Ключевые слова: аманитин; отравления грибами; электрокортикография; печёночная недостаточность

Соблюдение этических стандартов. Экспериментальное исследование одобрено независимым этическим комитетом при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (протокол от 17 октября 2023 года № 283).

Для цитирования: Ховпачев А.А., Скиба Я.Б., Вахвияйнен М.С., Иванов И.М., Луцык М.А., Башарин В.А. Электрокортикографические паттерны и динамика их изменения у морских свинок при острой печеночной энцефалопатии, вызванной β-аманитином. *Токсикологический вестник*. 2025; 33(2): 93–100. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-2-93-100>

Для корреспонденции: Ховпачев Алексей Андреевич, e-mail: vtms@vmeda.org

Участие авторов: Ховпачев А.А., Скиба Я.Б., Вахвияйнен М.С. — операции на свинках, проведение исследований, сбор и обработка материала, написание текста; Иванов И.М., Луцык М.А. — анализ данных, редактирование; Башарин В.А. — концепция, дизайн и организация исследования, редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила в редакцию: 12 октября 2024 / Принята в печать: 25 февраля 2025 / Опубликовано: 30 апреля 2025

Alexey A. Khovpachev¹, Yaroslav B. Skiba², Maria S. Vakhviyainen³, Igor' M. Ivanov³, Mikhail A. Lutsyk¹, Vadim A. Basharin¹

Electrocorticographic patterns and dynamics of their changes in guinea pigs with acute hepatic encephalopathy caused by β -amanitin

¹S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, St. Petersburg, Russian Federation;

²I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 197022, St. Petersburg, Russian Federation;

³State Scientific-research Test Institute of the Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, St. Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The toxic effect of β -amanitine is associated with acute cerebral insufficiency, which causes the severity of the condition in the unfavorable course of phalloidin syndrome.

The aim of the research was to experimentally study the dynamics of bioelectric activity of the cerebral cortex of guinea pigs with beta-amanitine-induced hepatic encephalopathy.

Material and methods. The study was performed on 13 guinea pigs with 9-electrode epidural electrocorticographic sensors implanted in the skull. High purity β -amanitin was administered intraperitoneally to animals at a dose of 3 LD₅₀ (2.7 mg/kg). The bioelectric activity of the brain was evaluated daily in dynamics by means of logical and spectral analysis of electrocorticograms. Pathomorphological macro- and microscopic examination of dead animals was performed.

Results. A model of extremely severe poisoning of guinea pigs with 3 LD₅₀ of β -amanitin with a median life expectancy of 4.5 days, a 100% probability of terminal coma and death was obtained. General atrophy was observed at the autopsy, and brain edema and liver necrosis were observed at microscopy. Electrocorticographic monitoring revealed variants of normal brain activity in guinea pigs. After administration of β -amanitin, a stepwise acceleration process was established, followed by a slowdown in brain activity to a persistent rigid theta rhythm, its further suppression with the formation of decay patterns. The presence of waves of triphase morphology characteristic of hepatargy was revealed, which were recorded, as a rule, 2–3 days after the start of the experiment. In spectral analysis, the decrease in the dominant frequency and spectral edge of the rhythm began on day 1 of intoxication, reaching a fourfold drop on day 5 in comparison with the background.

Limitations. Changes in the electrical activity of the animals cortex were analyzed only after a single administration of β -amanitin at a dose of 3 LD₅₀; the data obtained may differ under other experimental conditions.

Conclusion. Electrocorticography is suitable for objectification of hepatargy in guinea pigs with a high translational potential for extrapolating data to humans. Characteristic changes in severe encephalopathy due to β -amanitin intoxication have been established.

Keywords: amanitin; mushroom poisoning; electrocorticography; liver failure

Compliance with ethical standards. The experimental study was approved by an independent committee at the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation.

For citation: Khovpachev A.A., Skiba Ya.B., Vakhviyainen M.S., Ivanov I.M., Lutsyk M.A., Basharin V.A. Electrocorticographic patterns and dynamics of their changes in guinea pigs with acute hepatic encephalopathy caused by β -amanitin. *Toksikologicheskii vestnik / Toxicological Review*. 2025; 33(2): 93–100. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-2-93-100>

For correspondence: Alexey A. Khovpachev, e-mail: vtmz@vmeda.org

Authors' contribution: Khovpachev A.A., Skiba Ya.B., Vakhviyainen M.S. – operations on guinea pigs, conducting research, collecting and processing material, writing the text; Ivanov I.M., Lutsyk M.A. – data analysis, editing; Basharin V.A. – concept, design and organization of research, editing. All co-authors are responsible for approving the final version of the article and ensuring the integrity of all parts of the article.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Accepted: October 12, 2024 / Accepted: February 25, 2025 / Published: April 30, 2025

Введение

Бета-аманитин — первично-зрелый аманитотоксин, основной токсин грибов, инициирующий фаллоидиновый синдром (синоним — первичный гепатотоксический, циклопептидный, аманитиновый синдром; отравление бледной поганкой) [1]. С токсическим действием аманитотоксинов связывают до 90% летальных исходов от пищевых интоксикаций неинфекционной этиологии. Тяжёлое течение фаллоидинового синдрома сопряжено с множественной органной дисфункцией, в центре которой — гепатаргический отёк головного мозга, встречающийся на вскрытии до 87% случаев. При этом в 14,7% он выступает непосредственной причиной смерти [2].

По-настоящему эффективная терапия отравлений аманитинсодержащими грибами отсутствует, что способствует сохранению высокой летальности — от 7,5 до 30% в токсикологических стационарах и до 50% в непрофильных [2, 3]. В связи с частой встречаемостью повреждения мозга при данной патологии, очевидно, что дальнейшая разработка принципов её лечения невозможна без углублённого экспериментального изучения патогенеза гепатаргии, вызванной β-аманитином.

Объективным методом экспериментальной оценки функции центральной нервной системы выступает нейробиологический инструмент, опирающийся на получение электрического сигнала с коры головного мозга посредством эпидуральной электрокортикографии (ЭКоГ) [4, 5]. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения о ЭКоГ-паттернах и их динамике у грызунов при β-аманитин-индуцированной острой печёночной недостаточности. Также неполно представление о последовательности дезинтеграции биоэлектрической активности при токсической гепатаргии и в клинической токсикологии. Одна из причин — методическая: нарушения нейробиологических механизмов, как правило, формируются до поступления больного в стационар и, следовательно, получаемые при клинико-инструментальных исследованиях результаты во многом фрагментарны [6].

В связи с этим представляется обоснованным и актуальным проведение исследования с целью экспериментального изучения динамики биоэлектрической активности коры головного мозга морских свинок с вызванной β-аманитином печёночной энцефалопатией.

Материал и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 13 морских свинок — самцах массой тела 650–750 г, полученных из питомника ЗАО «НПО Дом фармации» (г. п. Кузьмолковский, Ленинградская обл.). Проведение исследования одобрено независимым этическим комитетом при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (протокол от 17 октября 2023 г. № 283). Исследование выполняли в соответствии с требованиями нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним.

Животных выдерживали в карантине в течение 14 сут. Больных и ослабленных особей в исследование не включали. Общие условия содержания: 12-часовой режим освещённости, температура воздуха 20–22 °С, влажность воздуха менее 75%, доступ к воде и пище — *ad libitum*. За 8 ч до начала исследований соблюдали пищевую депривацию.

Морские свинки были поделены на 2 группы: контрольную ($n = 3$) и опытную ($n = 10$). В череп свинок хирургическим способом вживляли эпидуральный ЭКоГ-датчик оригинальной конструкции для хронического мониторинга мозговой активности у бодрствующих животных. Через 7 сут после операции опытным животным выполняли внутрибрюшинное (в/б) введение β-аманитина, контрольным — носитель токсина. Далее оценивали корковую активность мозга свинок в динамике.

Вживление ЭКоГ-датчика в череп свинок проводили посредством стереотаксической трефинации в условиях общей в/б анестезии тилетаминном и золазепамом в дозе 50 мг/кг и местной инфльтрационной анальгезии 0,5–1,0% раствором лидокаина. Операцию выполняли в четыре этапа: доступ, трефинация отверстий, имплантация электродов и закрытие раны. В послеоперационный период животным обеспечивали восполнение дефицита жидкости и обезболивание [4].

Датчик включал 8 регистрирующих и 1 заземляющий электрод. Имплантацию лобных электродов Fp_1 и Fp_2 выполняли над первичной двигательной корой по стереотаксическим координатам: $AP = +2$ мм (вперёд/назад от брегмы), $ML = \pm 2,0$ мм (влево/вправо от сагиттального шва), $DV = 1,0$ мм (глубина погружения), височных T_3 и T_4 — над височной корой: $AP = -5$ мм; $ML = \pm 4$ мм; $DV = 1,0$ мм; теменных C_3 и C_4 — над первичной соматосенсорной корой: $AP = -5$ мм; $ML = \pm 2$ мм; $DV = 1,0$ мм; затылочных O_1 и O_2 —

над мозжечком: AP = -12 мм, ML = ±2,0 мм, DV = 1,0 мм [7]. Заземляющий электрод дислоцировали подкожно в область шеи на 1,5 см каудально от края затылочной кости.

В исследовании использовали субстанцию β-аманитина чистотой более 90%, установленной в сравнении с аналитическим стандартом токсина (AppliChem, Германия) посредством высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity с тандемным масс-спектрометрическим детектором 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS (Agilent Tech., США) [2]. Рабочий раствор β-аманитина готовили *ex tempore* путём разведения субстанции в забуференном растворе натрия хлорида 0,9% с pH 7,4 (физраствор) в концентрации 2 мг/мл. Введение β-аманитина осуществляли через 7 сут после вживления датчика, в/б в дозе 3 ЛД₅₀ – 2,7 мг/кг.

Запись спонтанного биоэлектрического сигнала выполняли у свободно перемещающихся свинок с помощью 8-канального компьютерного энцефалографа с модулем Нейрон-Спектр-1 с прикладным программным обеспечением Нейрон-Спектр.NET (ООО «Нейрософт», Россия). Регистрацию сигнала осуществляли с полосой пропускания 0,5–70 Гц и частотой квантования 500 Гц. Из сигнала формировали биполярные продольные отведения Fr₁–C₃, C₃–O₁, Fr₁–T₃, T₃–O₁, Fr₂–C₄, C₄–O₂, Fr₂–T₄, T₄–O₁ (монтаж «double banana», рис. 1, см. на вклейке). От затылочных и заземляющего электродов дополнительно формировали электрокардиографическое отведение.

Для экспериментальных исследований использовали животных с фоновой мозговой активностью без патологических знаков. Для снижения процедур-опосредованного стрессорного влияния на ЭКоГ, свинок после операции по 10–15 мин в день адаптировали к взятию на руки. Регистрацию показателей ЭКоГ осуществляли после нормализации сигнала в течение 30 мин ежедневно и при существенных сдвигах неврологического статуса. Безартефактные участки ЭКоГ анализировали посредством клинического визуального анализа и количественно с помощью спектрального анализа. Оценивали спектральную амплитуду и мощность: дельта – 0,5–4,0 Гц, тета – 4,0–8,0 Гц, альфа – 8,0–14,0 Гц, бета – низкочастотных – 14,0–20,0 Гц и высокочастотных – 20,0–35,0 Гц, гамма-ритмов – 35,0–70,0 Гц, коэффициент модуляции, индекс ритма или феномена, то есть относительную длительность за эпоху анализа. С помощью преобразования Фурье сигнал ЭКоГ переводили из временной в частотную область. Для спектрального анализа фиксировали следующие показатели [8]:

- доминирующая частота – частота, в которой график спектра достигает пика в заданном частотном диапазоне;
- спектральный край – частота, лежащая в основе 95% спектра мощности;
- средняя мощность – усреднённая мощность спектра в заданном диапазоне.

О степени угнетения неврологической функции судили по критериям индекса тяжести неврологических нарушений у грызунов [9].

После смерти опытных животных выполняли аутопсию, гравиметрию их внутренних органов. Сроки летального исхода фиксировали посредством суточного видеомониторинга. При возможности исследования непосредственно после гибели, печень и мозг фиксировали в забуференном формалине, выполняли гистопатологическое изучение их препаратов, стандартно окрашенных гематоксилином и эозином.

Первичную обработку данных осуществляли в электронных таблицах ПО Office Excel 2016, статистический анализ – при помощи Statistica 10.0. Количественные данные спектра ЭКоГ рассчитывали как среднее арифметическое показателей всех отведений в 3 эпохах по 5 с. Для описания отличных от нормального распределения мер центральной тенденции количественных признаков использовали медиану, нижний и верхний квартили (*Me* [Q₂₅; Q₇₅]). Сравнение независимых количественных показателей выполняли при помощи критерия Манна–Уитни, зависимых – критерия Уилкоксона с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Ввиду смерти части свинок при изучении зависимых показателей, для восстановления пропусков использовали метод подстановки среднего. Вывод о статистической значимости различий принимали при $p < 0,05$.

Результаты

Предварительно было установлено, что средняя смертельная доза исследуемой субстанции β-аманитина для морских свинок при в/б введении составляла 0,9 мг/кг. После в/б введения 3 ЛД₅₀ (2,7 мг/кг) летальность опытных животных достигала 100%, а продолжительность жизни – 4,5 [3,65; 5,42] сут (рис. 2, см. на вклейке).

У морских свинок наблюдали изменения пищевого поведения и внешнего вида, истощение, геморрагические явления, когнитивные нарушения, депримиацию. Свинки теряли от 15 до 35% массы тела. Уменьшалось число актов аутогруминга, вследствие чего внешне животные были не ухожены. К 3–6-м суткам после начала

интоксикации наблюдали развитие оглушения, сопора и комы. Период агонии характеризовался боковым положением с постепенной утратой рефлекса переворачивания и нарастанием одышки, нарушением болевой чувствительности в виде потери локализации раздражителя, утраты роговичного, корнеального и глоточного рефлексов.

При вскрытии умерших особей наблюдали атрофию всех мышечных групп с контурированием и усилением костных ориентиров, желтушность мягких тканей. На микроскопии определяли выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отёк головного мозга, центрлобулярный некроз печени с баллонной дистрофией и нарушением балочно-радиарного строения долек (рис. 3, см. на вклейке).

Исходя из внешних проявлений и данных аутопсии, β -аманитин можно отнести к высокотоксичным пептидам для морских свинок, а степень выраженности интоксикации определить как крайне тяжёлую. Среди контрольных животных с имплантированными в череп конструкциями и получавшими только физраствор подобных изменений не наблюдали.

При визуальном анализе фоновых кортикограмм опытных и контрольных животных в различные сроки после введения физраствора наблюдали непрерывный паттерн без пароксизмальных эпизодов депрессии сигнала и патологических знаков. В состоянии бодрствующего покоя в частотной структуре непрерывного паттерна преобладал тета-ритм, индекс которого достигал 40% и более. Около 35% занимали альфа-волны, оставшееся время делили между собой бета- и дельта-ритмы. При поисково-исследовательской активности на долю тета-ритма приходилось до 65% сигнала, что особенно хорошо было видно в височно-теменных отведениях. При нанесении ноцицептивного раздражения ритм десинхронизировался, в частотной структуре нарастала представленность бета-ритма.

Наблюдения за ЭКоГ свинок позволило выявить ряд общих тенденций и стадийность электрофизиологических сдвигов. В целом полученные изменения носили однонаправленный характер у всех опытных животных и отражали тяжесть установленных внешних проявлений интоксикации.

В течение 1 сут после введения токсина отмечали увеличение частоты фоновой активности. При нормальной неврологической функции у 8 из 10 опытных особей появлялись симметричные веретенообразные высокоамплитудные альфа-вспышки длительностью 3–6 с, в пределах структуры которых вычленились острые волны.

Далее альфа-вспышки пропадали, происходило изменение активности до персистирующего ригидного тета-ритма: замедление частоты и обеднение амплитудной вариабельности, снижение десинхронизации в ответ на афферентные раздражители.

Параллельно снижению уровня бодрствования, поисковой активности, избегания при взятии на руки, пищевого поведения, прогрессированию локомоторного и когнитивного дефицита наблюдали появление разрядов трифазной морфологии. Амплитуда разрядов варьировала от 100 до 300 мВ, частота – от 1,5 до 2,5 Гц. Разряды были представлены преимущественно в лобно-височных отведениях, в нескольких случаях был лобно-затылочный градиент различной степени выраженности. Одиночные трифазные волны на фоне дальнейшего замедления активности переходили в пробеги с длительностью 4–6 с и максимальной амплитудой до 400 мкВ.

В последующем наблюдали стадийный процесс угнетения основного ритма с формированием периодической активности, её вытеснение уплощёнными и изоэлектрическими промежутками. На фоне прогрессирования нарушения неврологической функции до комы непрерывный ригидный тета-ритм замещался периодическими паттернами по типу «вспышка-ослабление», «вспышка-подавление», чередованием отдельных разрядов с промежутками малой электрической продукции. В пределах вспышек встречали разряды трифазной морфологии и спайк-волнового строения. Внешне у животных не было судорог, в связи с чем обнаруженная активность носила эпилептиформный характер. В дальнейшем разряды полностью вытеснялись изоэлектрическим молчанием.

У 3 (смерть через 2,3, 3,2 и 5,5 сут) из 10 свинок ЭКоГ-картина терминальной комы отличалась от остальных животных. У этих животных паттерн «вспышка-ослабление» переходил в бета-кому без волн трифазной морфологии. По всей видимости, у данных особей превалировали процессы кардиотоксичности. Вследствие этого гипоперфузия мозга опередила развитие его цитотоксического повреждения, определив тем самым отличительные особенности электрической активности мозга.

Смерть животных сопровождала изолиния на электрокардиографическом отведении. Эволюция сигнала, иллюстрирующая общую тенденцию биоэлектрических сдвигов у животных, представлена на примере одной особи на рис. 4.

При оценке спектральных характеристик ЭКоГ фоновые показатели у опытных и контрольных особей не отличались, что свидетельствовало

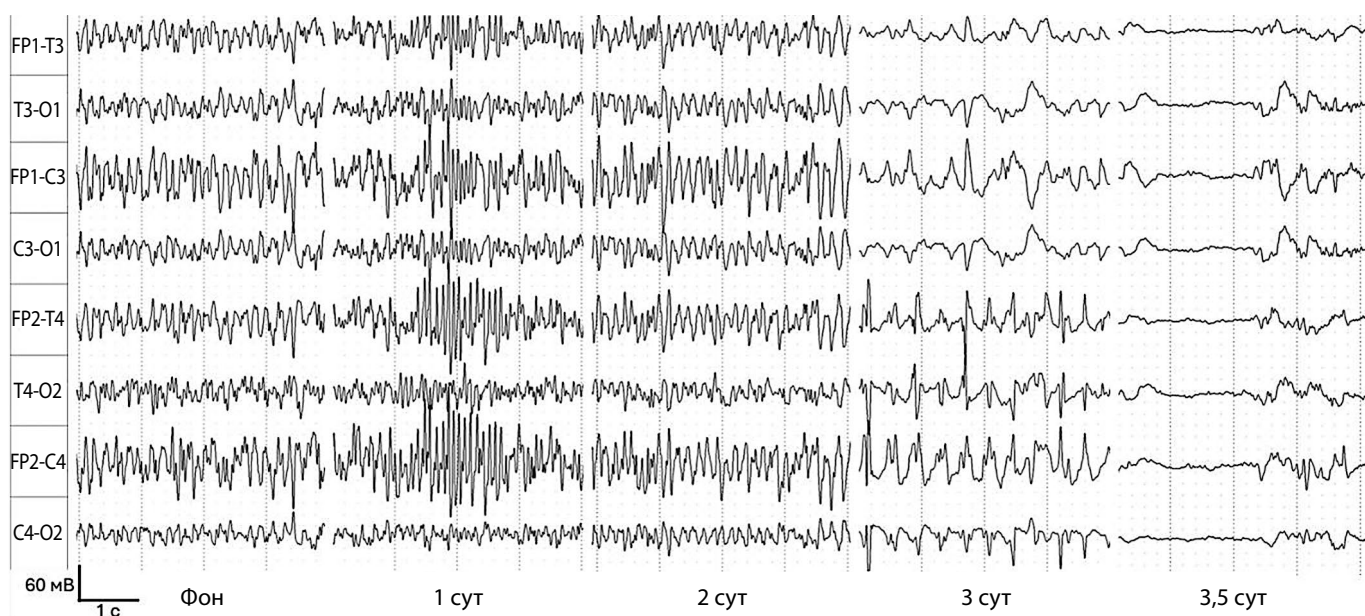


Рис. 4. Активность коры головного мозга морской свинки в различные сроки после введения β -аманитина в дозе 3 LD_{50} (смерть через 3,5 сут). Скорость – 15 мм/с, чувствительность – 20 мВ/мм, частота пропускания – 0,5–70 Гц, эпоха – 4 с. Фон – непрерывный паттерн, модулированный по типу веретён, без межполушарной асимметрии; доминирует тета-ритм частотой 7,7 Гц средней амплитудой 60 мкВ, в височно-теменных отведениях встречается низкоамплитудная бета-ритмика, единичны диффузные волны дельта-диапазона с амплитудой до 200 мкВ. 1-е сутки – ритм дезорганизован, доминирующая частота 5,7 Гц, снижена модуляция амплитуды; появляются билатеральные синхронные высокоамплитудные альфа-вспышки амплитудой до 300–400 мкВ с единичными острыми волнами. 2-е сутки – наблюдается замедление и снижение амплитуды ритма, представляющего маломодулированный маловариабельный ригидный тета-ритм с индексом до 80%; доминирующая частота 5,0 Гц; отмечается отсутствие вспышек альфа-диапазона, появление единичных трифазных волн, преимущественно в лобно-височных отведениях. 3-и сутки – на фоне сопора – прогресс замедления и уплощение амплитуды активности до дельта-волн с выраженным лобно-затылочным градиентом; доминирующая частота 1,6 Гц. Выявляются трифазные волны. 3,5 сут – на фоне комы терминальной – паттерн вспышка-подавление: диффузные волны тета-диапазона сменяются уплощённой активностью амплитудой 1–2 мкВ; доминирующая частота 0,75 Гц.

Fig. 4. Activity of the guinea pig cortex at various times after administration of β -amanitin at a dose of 3 LD_{50} (death after 3.5 days). Speed – 15 mm/s, sensitivity – 20 mV/mm, transmission frequency – 0.5–70 Hz, recording period– 4 s. Note: The background – a continuous pattern modulated by the type of spindles, without interhemispheric asymmetry. A theta rhythm with a frequency of 7.7 Hz and an average amplitude of 60 mV dominates, a low-amplitude beta rhythm occurs in the temporoparietal leads, and diffuse delta waves with an amplitude of up to 200 mV are isolated. Day 1 – the rhythm is disorganized, the dominant frequency is 5.7 Hz, the amplitude modulation is reduced. Bilateral synchronous high-amplitude alpha flashes with an amplitude of up to 300–400 mV with single sharp waves appear. Day 2 – there is a slowdown and decrease in the amplitude of the rhythm, which is a low-modulated, low-variable rigid theta rhythm with an index of up to 80%. The dominant frequency is 5.0 Hz. There are no flashes of the alpha range, the appearance of single triphase waves, mainly in the frontal-temporal leads. Day 3 – sopor, the progress of deceleration and flattening of the amplitude of activity to delta waves with a pronounced frontal-occipital gradient. The dominant frequency is 1.6 Hz. Triphase waves are detected. Day 3.5 – terminal coma, flash-suppression pattern: diffuse theta-band waves are replaced by flattened activity with an amplitude of 1–2 mV, dominant frequency – 0.75 Hz.

о сопоставимости групп. В контрольной группе в различные сроки после начала интоксикации не было найдено отличий, в сравнении с фоном, что указывало на удовлетворительную воспроизводимость условий наблюдения.

У грызунов опытной группы уже к 1-м суткам существенно снижались показатели доминирующей частоты и 95% спектрального края. В дальнейшем к 5-м суткам депрессия этих показателей снижалась в 2–2,5 раза в сравнении с изначальными и контрольными значениями. Развитие

же терминального состояния сопровождалось снижением доминирующей частоты и отметки 95% спектра в 4 раза. В отличие от характеристик частоты сигнала, снижение средней мощности регистрировали преимущественно среди свинок с неврологическими нарушениями. В этой связи существенные изменения в опытной группе удалось проследить только к 5-м суткам наблюдения. Показатели спектрального анализа ЭКоГ свинок в различные сроки после введения токсина представлены в таблице.

Показатели спектрального анализа ЭКоГ морских свинок в различные сроки после внутрибрюшинного введения β -аманитина в дозе 3 ЛД₅₀, Me [Q₂₅; Q₇₅]
ECoG spectral analysis of guinea pig at various times after intraperitoneal administration of β -amanitine at a dose 3 LD₅₀, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Показатель	Группа	Фон	Срок исследования, сут				
			1-е	2-е	3-е	4-е	5-е
Доминирующая частота, Гц	Контрольная	7,6 [7,4; 7,9]	7,6 [7,1; 8,0]	7,4 [7,1; 8,1]	6,7 [6,6; 7,1]	7,0 [6,5; 7,5]	7,0 [7,0; 7,1]
	Опытная	7,7 [6,5; 7,8]	6,2 [5,7; 6,9] #	5,8 [5,6; 6,1] *#	4,9 [1,9; 5,6] *#	1,97 [0,9; 3,8] *#	1,4 [0,9; 3,2] *#
Спектральный край, Гц	Контрольная	24,3 [23,4; 25,5]	27,4 [25,0; 27,7]	25,6 [25,5; 25,8]	25,5 [24,5; 26,05]	23,5 [22,0; 24,7]	24,0 [23,4; 27,0]
	Опытная	25,9 [15,8; 28,9]	18,5 [16,3; 23,0] *#	17,5 [16,4; 20,2] *#	16,2 [13,5; 20,3] *#	14,2 [12,9; 18,3] *#	6,6 [5,9; 7,4] *#
Средняя мощность, мкВ ²	Контрольная	55,0 [52,5; 65,0]	58,0 [50,5; 69,5]	60,0 [56,5; 72,5]	64,0 [54,5; 74,0]	50,0 [47,0; 60,0]	51,0 [50,5; 58,0]
	Опытная	53,0 [46,2; 72,6]	56,5 [26,2; 80,6]	34,9 [29,1; 61,1]	33,1 [30,4; 60,4]	34,9 [29,1; 61,1]	26,5 [22,0; 34,0] *#

Примечание. * – различия с фоном значимы по критерию Уилкоксона с поправкой Бонферрони; # – различия с контрольной группой значимы по критерию Манна–Уитни

Обсуждение

В ходе проведённого экспериментального исследования по критериям летальности, внешних и патоморфологических проявлений у морских свинок была достигнута крайне тяжёлая степень интоксикации β -аманитином. Параллельно этому при мониторинге ЭКоГ у животных наблюдали нарушения, характеризующие тяжесть развившегося состояния.

Наиболее ранние изменения коснулись амплитудной модуляции непрерывной активности ЭКоГ-ритма. Вероятно, эти сдвиги отражали раннее нарушение синхронизирующих таламо-кортикальных взаимодействий. Были выявлены паттерны распада механизмов биоэлектrogenеза, волны острой и трифазной морфологии, часто встречаемые при гепатотоксической церебральной недостаточности и на электроэнцефалограмме человека. В клинике такие аномальные паттерны указывают на неблагоприятный прогноз [8]. Появление волн острой морфологии не сопровождалось судорогами, в связи с чем они носили эпилептиформный характер. В случае развития острой сердечной недостаточности могла возникнуть бета-кома с последующей смертью.

При электроэнцефалографическом исследовании у человека появление медленных трифазных высоковольтных разрядов хоть и не высокоспецифичное явление, но в контексте печёночной недостаточности связано с наступлением глубокой комы [5]. Однако в ходе исследования у свинок наблюдали появление волн трифазной морфологии при отсутствии явных неврологических нарушений, либо при их более поверхностных градациях, оцениваемых как оглушение и сопор. По всей видимости установленное отличие может быть объяснено эпидуральной дислокацией элек-

тродов, что позволило повысить чувствительность исследования в сравнении с электроэнцефалографией. Также это может быть связано и с межвидовыми различиями в физиологии мозга свинки и человека, что требует дальнейшего изучения.

Видимое невооружённым глазом замедление сигнала отразилось в количественных сдвигах доминирующей частоты и 95% спектрального края уже к концу 1-х суток наблюдений, а снижение средней амплитуды выступало предвестником смерти животных. Поэтому следует полагать возможную ценность первых двух показателей при дальнейших исследованиях минимальной печёночной недостаточности при меньшей дозе β -аманитина и дифференциальной диагностики гепатаргии в эксперименте среди остальных причин неврологических нарушений.

Резюмируя изложенное, можно сделать вывод о том, что анализ ЭКоГ пригоден для объективизации у морских свинок острой печёночной энцефалопатии, вызванной запредельной дозой β -аманитина. ЭКоГ-сигнал претерпевал следующие фазовые изменения: ускорение частоты → ригидность и замедление частоты → волны трифазной морфологии → периодические паттерны распада → замещение низковольтной активностью. Эти изменения носят сходный характер с формальными паттернами, наблюдаемыми при гепатаргии у человека. Поэтому установленные сведения указывают на высокий трансляционный потенциал экстраполяции данных с морских свинок на человека в контексте экспериментального моделирования изучаемой патологии.

Ограничения исследования. Изменения электрической активности коры головного мозга животных анализировали только после однократного введения β -аманитина в дозе 3 ЛД₅₀ – полученные данные могут отличаться при иных условиях эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 3, 5, 7 см. в References)

1. Ховпачев А.А., Башарин В.А., Чепур С.В., Волобуев С.В., Юдин М.А., Гоголевский А.С. и др. Современные представления о токсинах высших грибов: циклические пептиды. *Успехи современной биоологии*. 2020; 140 (6): 584–600.
2. *Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений грибами: Пособие для врачей*. Ред. Е.Ю. Бонитенко. СПб.: ЭЛБИ-СПб.; 2016.
4. Ховпачев А.А., Вахвийainen М.С., Башарин В.А., Чепур С.В., Луцык М.А., Никульшина Е.В., Голосов Р.Д. Изготовление электрокортикографического датчика и методика его имплантации крысам для долговременного мониторинга мозговой активности. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2024; 2: 48–58.
6. Костенко И.А., Александров М.В., Чёрный В.С. Механизмы формирования паттернов подавления биоэлектрической активности головного мозга при депримирующем действии нейротоксикантов. *Токсикологический вестник*. 2020; 29 (3): 35–43.
8. Александров М.В., Иванов Л.Б., Лытаев С.А. и др. *Электроэнцефалография: руководство*. Под ред. М.В. Александрова. 3-е изд., перераб. и доп. СПб.: СпецЛит; 2020.
9. *MR ФМБА России 21.10–13. Моделирование интоксикаций депримирующими агентами и оценка выраженности депримирующего эффекта*. М.: [б.и.]; 2013.

REFERENCES

1. Khovpachev A.A., Basharin V.A., Chepur S.V., Volobuev S.V., Yudin M.A., Gogolevsky A.S. et al. Actual Concepts of Higher Fungi's Toxins: Cyclic Peptides. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2020; 140 (6): 584–600. (in Russian)
2. *Clinic, diagnosis, treatment, forensic examination of mushroom poisoning: A guide for physicians [Klinika, diagnostika, lechenie, sudebno-medicinskaya ekspertiza otravlenij gribami: Posobie dlya vrachej]*. Ed. E.Y. Bonitenko. Saint-Petersburg: ELBI-SPb.; 2016. (in Russian)
3. Tan J.L., Stam J., van den Berg A.P., van Rheenen P.F., Dekkers B.G.J., Touw D.J. Amanitin intoxication: effects of therapies on clinical outcomes – a review of 40 years of reported cases. *Clin. Toxicol.* 2022; 60(11): 1251–65. <https://doi.org/10.1080/15563650.2022.2098139>
4. Khovpachev A.A., Vakhviyainen M.S., Basharin V.A., Chepur S.V., Lutsyk M.A., Nikulshina E.V., Golosov R.D. Manufacture of an electrocorticographic sensor and its implantation technique in rats for long-term monitoring of brain activity. *Laboratory'e zhivotny'e dlya nauchny'x issledovaniy*. 2024; 2: 48–58. (in Russian)
5. Van der Rijt C.C., Schalm S., De Groot G.H., De Vlieger M. Objective measurement of hepatic encephalopathy by means of automated EEG analysis. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 1984; 57: 423–6. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(84\)90071-3](https://doi.org/10.1016/0013-4694(84)90071-3)
6. Kostenko I.A., Alexandrov M.V., Cherny V.S. Mechanisms of formation of patterns of suppression of bioelectric activity of the brain under the depressing effect of neurotoxins. *Toxikologicheskij vestnik*. 2020; 29(3): 35–43. (in Russian)
7. Voitenko L.P., Marlinsky V.V. Stereotaxic atlas of the guinea pig brainstem. *Translated from Neirofiziologiya*. 1993; 25(1): 52–77. <https://doi.org/10.1007/BF01053633>
8. Aleksandrov M.V., Ivanov L.B., Lytaev S.A., et al. *Electroencephalography: a guide*. edited by M.V. Alexandrov. 3rd ed., revised and add. [Elektroencefalografiya: rukovodstvo. pod red. M.V. Aleksandrova. 3-e izd., pererab. i dop.]. St. Petersburg: SpecLit; 2020. (in Russian)
9. *MR FMBA of Russia 21.10–13. Modeling of intoxication with deprimating agents and assessment of the severity of the deprimating effect [Modelirovanie intoksikacij depriimiruyushchimi agentami i ocenka vyrazhennosti depriimiruyushchego effekta]*. Moscow: [s.l.]; 2013.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ховпачев Алексей Андреевич, кандидат мед. наук, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ВМедА, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vtmz@vmeda.org

Скиба Ярослав Богданович, кандидат мед наук, врач-невролог клиники НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии ПСПбГМУ, 197022, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: yaver-99@mail.ru

Вахвийainen Мария Сергеевна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник ГНИИИ ВМ, 195043, г. Санкт-Петербург, Россия

Иванов Игорь Михайлович, доктор мед наук, начальник отдела ГНИИИ ВМ, 195043, Санкт-Петербург, Россия

Луцык Михаил Анатольевич, кандидат мед наук, доцент, старший преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ВМедА, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vtmz@vmeda.org

Башарин Вадим Александрович, доктор мед. наук, профессор, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ВМедА, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: vtmz@vmeda.org

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexey A. Khovpachev, Cand. Sci. (Med.), Lecturer at the Department of Military Toxicology and Medical Protection of the Russian of the Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0002-5780-1557> E-mail: vtmz@vmeda.org

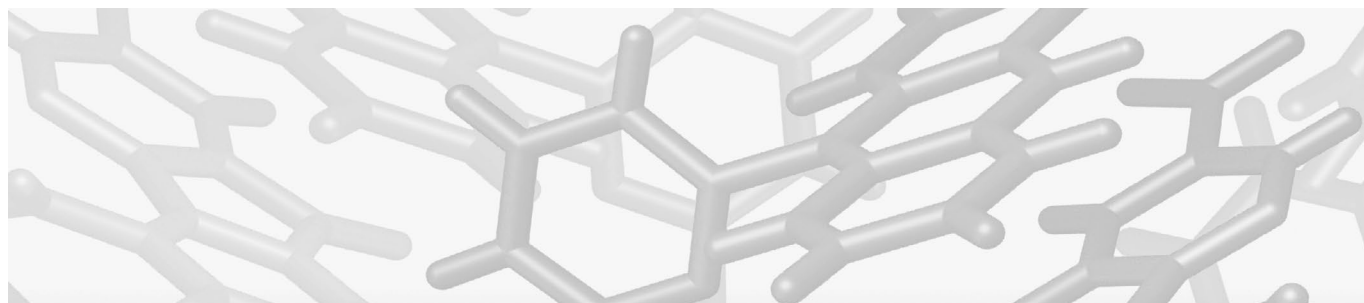
Yaroslav B. Skiba, Cand. Sci. (Med.), Neurologist at the Clinic of the Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, 197022, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1955-1032> E-mail: yaver-99@mail.ru

Maria S. Vakhviyainen, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher at the State Scientific Research Institute, 195043, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0006-6556-1273>

Igor M. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Division of State Scientific Research Institute, 195043, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0001-8192-2589>

Mikhail A. Lutsyk, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Senior Lecturer at the Department of Military Toxicology and Medical Protection of the Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0001-7674-2153> E-mail: vtmz@vmeda.org

Vadim A. Basharin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Military Toxicology and Medical Protection of the Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8548-6836> E-mail: vtmz@vmeda.org



К статье А.А. Ховпачева и соавт.
To the article by Alexey A. Khovpachev et al.

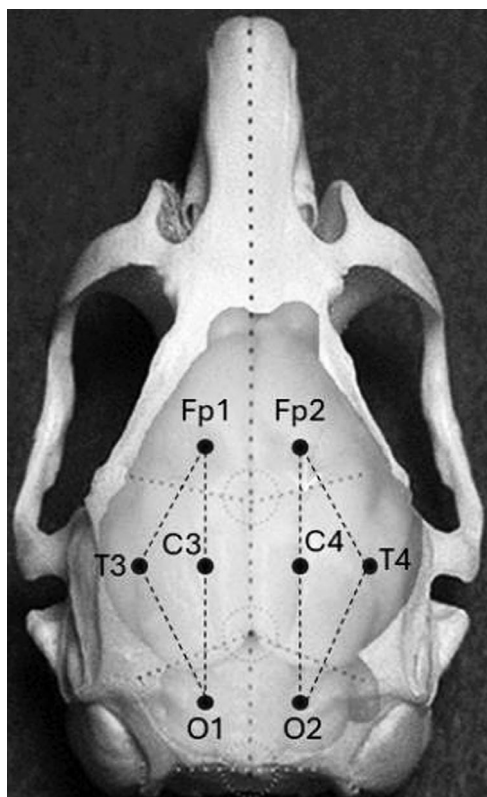


Рис. 1. Схема монтажа ЭКоГ-электродов на черепе морской свинки.

Fig. 1. Installation diagram of ECoG electrodes on the skull of a guinea pig.

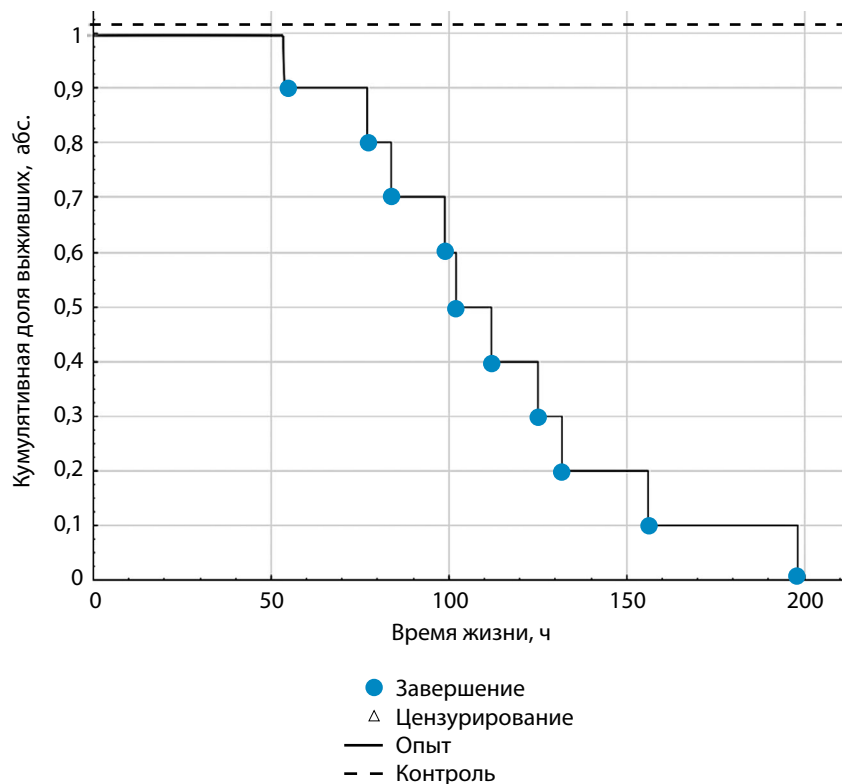


Рис. 2. Динамика гибели морских свинок, получавших β -аманитин в дозе 3 ЛД₅₀, в сравнении с контрольными животными (график Каплана-Мейера).

Fig. 2. Dynamics of death of guinea pigs treated with β -amanitine at a dose of 3 LD₅₀, in comparison with control animals (Kaplan-Meier graph).

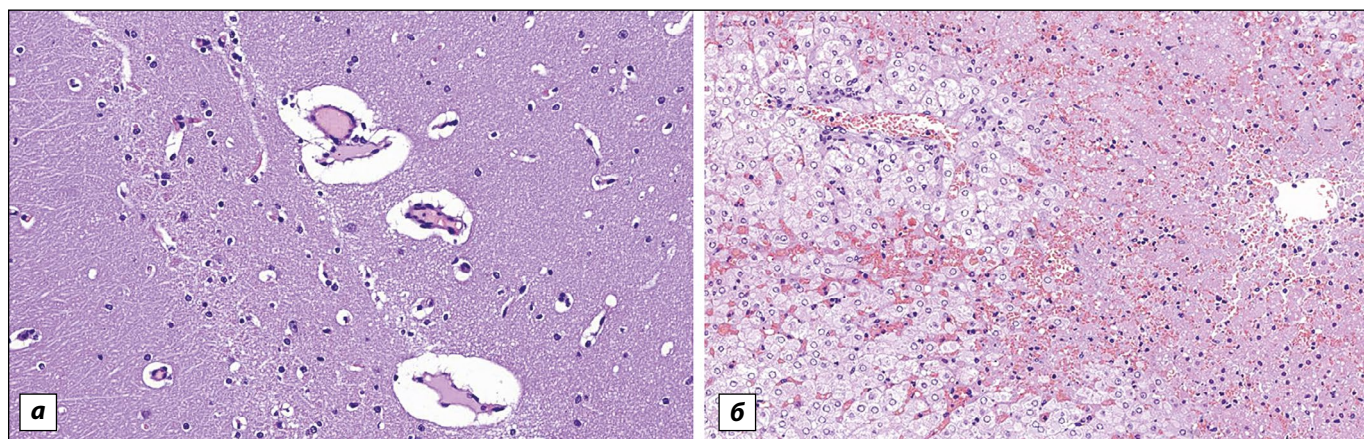


Рис. 3. Альтерация головного мозга (а) и печени (б) морской свинки, умершей через 4,1 сут после введения β -аманитина в дозе 3 ЛД₅₀: а – выраженный периваскулярный и перичеселлярный отёк головного мозга; б – тяжёлый центролобулярный токсический гепатит с зонами некротического поражения и баллонной дистрофии, в наличии крупно- и мелкоочаговые кровоизлияния, умеренно выраженная экссудативная клеточная реакция. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$.

Fig. 3. Alterations of the brain (a) and liver (b) of a guinea pig that died 4.1 days after administration of β -amanitine at a dose of 3 LD₅₀: a – severe perivascular and pericellular edema of the brain; b – severe toxic centrolobular hepatitis with areas of necrotic lesion and ballooning dystrophy, in the presence of large and small focal hemorrhages, moderate exudative cellular reaction. Hematoxylin-eosin staining. Expansion $\times 200$.