

На правах рукописи

ШЕРБАШОВ

Константин Анатольевич

**АНТИГИПОКСАНТЫ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
ОТЕКА ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННОГО ТОКСИЧНЫМИ
КОМПОНЕНТАМИ ПОЖАРОВ**

14.03.04 – токсикология

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном военном образовательном учреждении высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Научные руководители:

Башарин Вадим Александрович – доктор медицинских наук доцент, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Минобороны России

Шабанов Петр Дмитриевич – доктор медицинских наук профессор, заведующий кафедрой фармакологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Минобороны России

Официальные оппоненты:

Бородавко Виктор Константинович – доктор медицинских наук профессор, старший научный сотрудник НИИ кораблестроения и вооружения ВМФ ВУНЦ ВМФ «Военно-морская академия»

Евсеев Андрей Викторович – доктор медицинских наук профессор, профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 215.002.11 на базе Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на официальном сайте ФГБВОУ ВО «Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова» МО РФ

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук



Язенок А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Ежегодно в России на пожарах гибнет и получает травмы большое количество людей. По данным МЧС в 2015 году зарегистрировано 146 тыс. пожаров, в которых погибло 9419 человек, а в 2016 году произошло более 139 тыс. пожаров, на которых погибло 8760 и пострадало 9909 человек.

В настоящее время в промышленности и быту повсеместно используются легковоспламеняющиеся синтетические материалы. При горении или пиролизе некоторых из них увеличивается скорость распространения огня и количество, выделившихся токсичных продуктов горения, что приводит к увеличению числа отравленных (Бонитенко Ю.Ю. и др., 2004; Колкутин В.В. и др., 2010; Коннова Л.А. и др., 2011).

В большинстве своем состав газовой среды при горении зависит от материала и условий термодеструкции (открытое пламенное горение при достаточном поступлении кислорода или пиролиз при его недостатке). В составе продуктов горения идентифицированы такие вещества, как оксиды углерода, азота и серы, фосген, непредельные и ароматические углеводороды, альдегиды и целый ряд других соединений (Красновских М.П. и др., 2014).

Основным газообразным продуктом горения, образующимся на пожарах и вызывающим интоксикации, является монооксид углерода (СО) (Као L.W. et al., 2005; Пузач С.В. и др., 2008). Кроме того, в современных условиях при термическом разложении синтетических материалов представляют большую опасность вещества пульмоноотоксического действия, приводящие к развитию токсического отека легких. Среди них в воздушной среде очага пожара наиболее часто определяют оксиды азота, выделяющиеся при горении азотсодержащих полимерных материалов, и фосген, образующийся в значительном количестве при термодеструкции различных хлорсодержащих синтетических материалов (Спирин А.В. и др., 2009; Красновских М.П. и др., 2014).

Горение синтетических материалов привело к изменению характера получаемых травм. Увеличилась доля пострадавших с термоингаляционной травмой и отравлением продуктами горения по сравнению с пострадавшими только от ожогов (Алексеев А.А. и др., 2011; Жилинский Е.В. и др., 2014). Более чем в 80% случаев причиной гибели людей при пожаре является острое отравление газообразными продуктами горения (Пузач С.В. и др., 2010; Загребина Е.И. и др., 2012).

В условиях пожара действие высокой температуры, токсичных продуктов горения, дыма, раскаленного и обедненного кислородом воздуха на пострадавшего приводят к развитию острого повреждения легких/острому респираторному дистресс-синдрому (ОПЛ/ОРДС), который проявляется в виде клинической картины токсического отека легких (Новиков Н.И. и др., 1993; Полозова Е.В. и др., 2015).

По данным литературы, токсический отек легких у 30% отравившихся продуктами горения диагностируется только в стационаре, при этом до 75% из них погибают. Таким образом, поздняя диагностика отека легких является причиной высокой летальности (Алексеев А.А. и др., 2011). У 89% погибших отек легких развивался уже через 10-15 минут после интоксикации (Спирин А.В. и др., 2009). Отмечается, что риск развития отека легких повышается при ожогах более 50% тела. При этом часто отек легких в

первые 24 часа после отравления можно диагностировать только на основании рентгенологических признаков, что может стать причиной позднего начала лечения (Рожков П.Г. и др., 2010; Хубутя М.Ш. и др., 2012).

Наличие скрытого периода действия у пульмонотоксикантов может ввести в заблуждение относительно степени тяжести состояния пострадавших, особенно при массовых санитарных потерях, когда в первую очередь оказывается помощь пострадавшим в тяжелом состоянии. Опасность отека легких, вызванного токсичными компонентами пожаров, заключается в его быстром развитии, которое сопровождается нарастающей острой дыхательной недостаточностью (Алексеев А.А. и др., 2011; Жилинский Е.В. и др., 2014).

В основе токсического действия продуктов горения лежат разные механизмы действия, однако для большинства из них ведущим является развитие типового патологического процесса – гипоксии (Третьякова Е.В., 2006; Воробьев С.В. и др., 2017). Она требует немедленной фармакологической коррекции, так как развивающаяся при поражении органов дыхания гипоксия приводит к нарушению функционирования жизненно важных органов и систем организма, в том числе и ЦНС (Толкач П.Г. и др., 2017), что может стать причиной смерти (Третьякова Е.В., 2006; Зарубина И.В., 2011).

Для коррекции гипоксии, вызванной различными причинами, используют препараты из группы антигипоксантов (Зарубина И.В. и др., 2004). Имеются отдельные экспериментальные данные об их эффективности, в том числе при токсическом отеке легких (Кропотов А.В., 1997; Торкунов П.А. и др., 2008). Также необходимо продолжить изучение препаратов, относящихся к группе антигипоксантов, в том числе новых перспективных, с целью определения их способности предотвращать неблагоприятные последствия гипоксии, формирующейся при развитии отека легких, вызванного токсичными продуктами горения (Марышева В.В. и др., 2008; Торкунов П.А. и др., 2008).

Степень разработанности темы. Проблема фармакологической коррекции токсического отека легких при отравлении токсичными компонентами пожаров известна давно (Зверев М.И. и др., 1981; Иличкин В.С., 1993). С учетом изменившегося спектра горящих материалов в настоящий момент активно изучаются отравления продуктами горения полимерных материалов, вызываемый ими отек легких и особенно развивающаяся гипоксия (Земляной А.В. и др., 2015; Бердочников Р.С. и др., 2016).

Антигипоксанты, как класс фармакологических соединений, появились в 60-х годах прошлого века. Идея и приоритет в разработке данного класса соединений принадлежит учёным Военно-медицинской академии и в первую очередь профессору В.М. Виноградову (Зарубина И.В. и др., 2004). К настоящему времени синтезировано большое количество различных соединений, обладающих антигипоксической активностью (Шанин Ю.Н. и др., 2003; Семиголовский Н.Ю., 2004). Применение антигипоксантов в клинической практике может помочь предотвратить или уменьшить тяжесть развивающейся гипоксии, сопровождающей большинство патологических процессов (Вислобоков А.И. и др., 2003). Имеются отдельные работы посвященные изучению эффективности антигипоксантов различного химического строения (амтизол, триазиноиндолы и др.) при токсическом отеке легких, вызванном разными

токсическими агентами (фосген, диоксид азота) (Кропотов А.В., 1997; Торкунов П.А., 2007). В работах исследованы эффекты антигипоксантов только при изолированном действии одного токсичного газа, в то время как на пожаре на человека действует сочетание газов. Кроме того, в настоящее время спектр веществ, обладающих антигипоксической активностью, существенно расширился.

Таким образом, новые антигипоксанты, в том числе и содержащие янтарную кислоту, представляют значительный интерес в плане изучения их эффективности при профилактическом и лечебном применении при токсическом отеке легких, вызванном продуктами горения.

Цель исследования: экспериментально оценить эффективность профилактического и лечебного применения антигипоксантов при токсическом отеке легких, вызванном токсичными компонентами пожаров.

Задачи исследования:

1. Оценить эффективность профилактического и лечебного применения антигипоксантов, производных гутиминового ряда и сукцинатсодержащих, на лабораторных животных при токсическом отеке легких, вызванном диоксидом азота.

2. Изучить влияние антигипоксантов при лечебном применении на летальность, гравиметрические показатели легких и функцию внешнего дыхания крыс при отеке легких, вызванном фосгеном.

3. Оценить эффективность профилактического применения антигипоксантов при развитии токсического отека легких у крыс, вызванного острым ингаляционным воздействием диоксида азота в сочетании с оксидом углерода.

Научная новизна исследования. Экспериментальная оценка эффективности антигипоксантов, производных гутимина и содержащих янтарную кислоту (сукцинатсодержащих), в качестве средств фармакологической коррекции токсического отека легких, вызванного диоксидом азота или фосгеном, позволила сформулировать принципы их возможного применения при данной патологии. В частности, показано, что профилактическое применение сукцинатсодержащих антигипоксантов суназола и цитофлавина снижает степень выраженности токсического отека легких и летальность крыс при отравлении диоксидом азота. Кроме того, это подтверждено в разработанной оригинальной модели интоксикации, вызванной сочетанным действием диоксида азота и монооксида углерода, где изучена эффективность антигипоксантов при профилактическом применении. Установлено, что наибольшей эффективностью при профилактическом применении в этих условиях обладает сукцинатсодержащий антигипоксант суназол. В отличие от высокого защитного действия антигипоксантов при профилактическом введении, их лечебное применение было менее эффективным, оно не оказывало противоотечного действия и не снижало летальность крыс, хотя удлиняло время их жизни. Это предполагает, что при профилактическом применении действие сукцинатсодержащих антигипоксантов возможно связано с запуском механизмов срочной адаптации к гипоксии через рецепторы, чувствительные к сукцинату, и активацией пептидного каскада опосредованных NIF-1 α внутриклеточных событий (Semenza G.L., 2012). Если отравление уже развилось (применение после отравления), то данная система не срабатывает и в полной мере не может защитить

организм от отравления, хотя признаки положительного действия антигипоксантов (удлинение продолжительности жизни животных) были отмечены.

Теоретическая и практическая значимость. В работе проведен анализ современных данных литературы о патогенезе токсического отека легких, уточнены основные причины его развития у пораженных на пожарах.

Исходя из механизмов фармакологического действия препаратов из группы антигипоксантов, обоснована возможность их применения при острых отравлениях токсичными компонентами пожаров.

При оценке сравнительной эффективности антигипоксантов выявили достаточную эффективность однократного профилактического применения амтизола в дозе 25 мг/кг, суназола в дозе 50 мг/кг и цитофлавина в дозе 100 мг/кг (по янтарной кислоте) при остром ингаляционном отравлении диоксидом азота в дозе LCt_{50} . В то же время полученные данные подтвердили, что применение антигипоксантов в качестве средств монотерапии токсического отека легких, вызванного, как диоксидом азота, так и фосгеном, малоэффективно.

Практическая значимость работы заключается в экспериментальном обосновании применения нового сукцинатсодержащего антигипоксанта суназола в качестве перспективного средства профилактики возникновения токсического отека легких при остром сочетанном ингаляционном отравлении CO и NO_2 .

Полученные данные об эффективности профилактического применения антигипоксантов амтизола, суназола и цитофлавина при ингаляционном воздействии диоксида азота позволяют рекомендовать дальнейшее более углубленное изучение данных фармакологических средств для профилактики различных критических состояний, сопровождающихся развитием отека легких.

Методология и методы исследования. Экспериментальное исследование проводилось на базе кафедр военной токсикологии и медицинской защиты и фармакологии Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова МО РФ.

Методология исследования включала в себя анализ литературы по данной теме, построение научной гипотезы, постановку цели и задач работы, разработку дизайна и протокола исследования, сбор, обработку и обобщение материала, формулировку выводов и практических рекомендаций.

В качестве объекта исследования были выбраны крысы, у которых моделировали острое отравление (токсический отек легких) с помощью токсикантов NO_2 , $COCl_2$, CO (экспозиция 15 мин) и анализировали эффекты профилактического и лечебного применения антигипоксантов амтизола, суназола, тримина, цитофлавина и янтарной кислоты. Методология исследования базировалась на требованиях нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных и гуманному отношению к ним. Работа выполнена с соблюдением принципов доказательной медицины и использованием современных методов исследования и обработки данных.

На проведение исследования получено разрешение локального независимого Этического комитета при Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова (протокол № 155 от 17.11.2014 г).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Антигипоксанты амтизол, суназол и цитофлавин при профилактическом применении при ингаляционном воздействии диоксида азота в дозе LC_{50} снижают летальность, уменьшают степень выраженности отека легких и морфологических изменений в ткани лёгких крыс.

2. Антигипоксанты амтизол, суназол, тримин и цитофлавин при лечебном применении при отеке легких, вызванном, как диоксидом азота, так и фосгеном в дозе LC_{50} , не оказывают противоотечного действия и не снижают летальность крыс.

3. Антигипоксанта суназол при профилактическом применении при сочетанном ингаляционном воздействии диоксида азота и оксида углерода оказывает положительное влияние на течение интоксикации, снижает степень выраженности отека легких и летальность крыс.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности определяется достаточным объёмом выборки, рандомизацией и формированием исследуемых групп сравнения и контроля; адекватными токсикологическими, фармакологическими, биохимическими, функциональными и морфогистологическими методами исследования; достаточными сроками наблюдения и корректными методами математической и статистической обработки полученных результатов.

Результаты проведённых исследований были опубликованы и обсуждены на Российской научной конференции с международным участием «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» (Санкт-Петербург, 2015); Российской научной конференции «Фармакология экстремальных состояний», посвящённой 150-летию Н.П. Кравкова (Санкт-Петербург, 2015); Российской научной конференции «Актуальные вопросы клиники диагностики и лечения в многопрофильном стационаре» (Санкт-Петербург, 2016), Первой Всероссийской научной конференции «Токсикология и радиобиология XXI века» (Санкт-Петербург, 2017).

Реализация результатов исследования. Полученные теоретические и практические результаты реализованы в учебном процессе кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова для курсантов факультетов подготовки врачей по дисциплине «Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита», раздел «Военная токсикология», тема № 4 «Токсикологическая характеристика отравляющих и высокотоксичных веществ пульмонотоксического действия. ОВ удушающего действия», а также по дисциплине «Безопасность жизнедеятельности и медицина катастроф», тема «Медико-санитарное обеспечение населения при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций химической и радиационной природы», а также на кафедре фармакологии по дисциплине «Фармакологии» по теме «Антигипоксанты». В процессе выполнения работы оформлено и принято к использованию 5 рационализаторских предложений (№ 13926/6 от 29.10.2014 г., № 13928/6 от 30.10.2014 г., № 14009/8 от 19. 11.2014 г., № 14223/6 от 27.11.2015 г., №14222/6 от 27.11.2015 г.).

Связь темы диссертации с плановой тематикой научно-исследовательской работы учреждения. Исследование выполнялось в соответствии с плановой тематикой научно-исследовательских работ Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова: тема НИР № VMA.02.02.06.1719/0029, шифр «Дымок».

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 7 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Личный вклад автора. По теме диссертационного исследования автором был проведён сбор и анализ научной литературы, сформулированы цель и задачи исследования, определены объекты и объём работы, проведён поиск методов и их обоснование для решения поставленных задач. Проведены экспериментальные исследования по моделированию ингаляционного отравления диоксидом азота, фосгеном и сочетанием диоксида азота с монооксидом углерода, а также фармакологической коррекции этих состояний антигипоксантами у лабораторных животных (белых крыс). Сформирована база данных и осуществлена их статистическая обработка, проведено обобщение и обсуждение полученных результатов, выполнено оформление диссертации, подготовлены публикации по теме диссертации.

Личный вклад автора в исследование составляет более 90%. Доля участия автора в получении и накоплении результатов – 100%, в статистической обработке – 100%, в проведении гистологических исследований – 60%, биохимических исследований – 100%, исследовании функции внешнего дыхания – 100%.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста, включает 17 таблиц и 15 рисунков. Состоит из введения, четырёх глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов), выводов, практических рекомендаций и библиографического списка литературы, включающего 204 источника (139 – на русском языке и 65 – на иностранных языках).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе кафедр военной токсикологии и медицинской защиты и фармакологии Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова на 684 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г из питомника лабораторных животных РАМН «Рапполово» (пос. Рапполово, Ленинградской обл.).

В исследовании использовали: диоксид азота (NO_2) в дозах LCt_{16} и LCt_{50} , которая составила 2,7 и 3,3 мг/л×мин соответственно; фосген (COCl_2) в дозе LCt_{50} , которая составила 4,32 мг/л×мин; оксид углерода (CO) в дозах LCt_{16} и LCt_{50} , которая составила 10,0 и 12,5 мг/л×мин соответственно.

Исследование состояло из пяти этапов: 1 этап – на модели острой ингаляционной интоксикации диоксидом азота в дозе LCt_{50} исследовали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина, цитофлавина и янтарной кислоты при профилактическом применении; 2 этап – оценивали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина и цитофлавина при лечебном применении при отеке легких, вызванном диоксидом азота в дозе LCt_{50} ; 3 этап – на модели отека легких, вызванного фосгеном в дозе LCt_{50} , изучали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина и цитофлавина при лечебном применении; 4 этап – создание модели сочетанного ингаляционного отравления диоксидом азота и оксидом углерода в

различных концентрациях; 5 этап – на модели сочетанного ингаляционного отравления диоксидом азота и оксидом углерода в дозах LCt_{16} оценивали эффективность антигипоксантов цитофлавина и суназола при профилактическом применении.

Моделирование острого ингаляционного воздействия диоксидом азота в дозе LCt_{50} , а также острого сочетанного ингаляционного воздействия диоксидом азота и оксидом углерода в разных дозах на лабораторных животных осуществляли статическим методом с использованием герметичной затравочной камеры объемом $0,1 \text{ м}^3$ в течение 15 минут, а фосгеном в дозе LCt_{50} в камере объемом $0,25 \text{ м}^3$ в течение 15 минут.

Концентрацию монооксида углерода и кислорода в камере определяли с помощью газоанализатора ДАХ-М-03 («Аналит-Прибор», Россия). Концентрацию фосгена и диоксида азота определяли при помощи ИК-Фурье спектроскопии.

В качестве токсикометрических параметров определяли LCt_{16} и LCt_{50} оксида углерода и диоксида азота, а также LCt_{50} фосгена, поскольку данные концентрации представляют собой наиболее точные количественные характеристики токсичности веществ с минимальным значением 95% доверительного интервала и несомненным оцениваемым эффектом (гибель животного) (Куценко С.А., 2004). LCt_{16} и LCt_{50} рассчитывали с помощью пробит-анализа по Финни с использованием пакета программ SPSS Statistica 10 for Windows. Летальность лабораторных животных в экспериментах с комбинированным и изолированным воздействием токсикантов оценивали в течение 1-х суток и выражали в процентах (%) по отношению к общему числу животных в группе. На основании показателя летальности рассчитывали коэффициент защиты (КЗ) (Лукк М.В. и др., 2008).

Используемые для фармакологической коррекции антигипоксанты вводили в следующих дозах: амтизол – 25 мг/кг; суназол – 50 мг/кг; тримин – 50 мг/кг; цитофлавин – 100 мг/кг (по янтарной кислоте); янтарную кислоту в дозах 25 и 100 мг/кг (Лукьянова Л.Д., 1990). Выбор доз препаратов основан на данных литературы (Зарубина И.В. и др., 2004; Оковитый С.В., 2009). Антигипоксанты амтизол, суназол, тримин, цитофлавин и янтарную кислоту растворяли в физиологическом растворе (0,9% NaCl) непосредственно перед введением. Полученные растворы вводили животному внутривентрально в объеме не более 5 мл. Контрольная группа получала растворитель (0,9% NaCl) в равном объеме.

У животных производили оценку общего состояния (поведение, окраска слизистых оболочек и кожных покровов, двигательная активность). Для оценки выраженности отека легких и определения количества внесосудистой воды легких использовали гравиметрические показатели: легочный коэффициент (ЛК), сухой остаток легких (СОЛ) и степень гидратации легких (СГЛ) (Торкунов, П.А. и др., 2008). Через 3, 6 и 24 часа после ингаляционного воздействия выживших животных выводили из эксперимента. После анестезии пропофолом у животных осуществляли забор легких. Взвешивание легких проводили на весах «ВЛ-220С» (НПП «Госметр», Россия). Затем легкие помещали в сушильный шкаф ШСС-80п (Россия) и высушивали их при температуре 60С° в течение 24 ч.

Гравиметрические показатели вычисляли по формулам (Торкунов П.А. и др., 2008):
 $ЛК = (\text{масса легких животного (г)}) / (\text{масса животного (г)}) \times 1000;$

$СОЛ = \frac{\text{масса высушенных легких животного (г)}}{\text{масса легких животного (г)}} \times 100$ (%);

$СГЛ = \frac{\text{масса легких отравленного животного (г)}}{\text{масса легких интактных животных [Me](г)}} \times 100$ (%).

Для морфогистологического исследования после извлечения легких крыс из грудной клетки правое легкое помещали в марлевую салфетку и фиксировали в 10% растворе забуференного формалина (ООО «ЭргоПродакшн», Россия). Ленточные срезы легких производили на санном микротоме PFM Slide 2003. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике (Меркулов Г.А., 1969). Изготовленные препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica DM1000 (Германия) при 100×, 200× и 400× кратном увеличении.

Определение частоты дыхательных движений при токсическом отеке легких, вызванном диоксидом азота в дозе LCt_{50} , проводили путем визуального подсчета движений грудной клетки в течение 1-й минуты. У животных, отравленных SO_2 , осуществляли регистрацию параметров функции внешнего дыхания (ФВД) с помощью плетизмографа esgTUNNEL (Emka Technologies, Франция). Крыс помещали в плексигласовые пеналы и через 60 с после нормализации показателей начинали регистрацию ФВД, которую проводили в течение 2 минут. Фиксировали дыхательный объем (ДО), частоту дыхания (ЧД), минутный объем дыхания (МОД), $Penh$ (интегральный показатель бронхоконстрикции) и пиковую скорость выдоха (ПСВыдоха). Исследование ФВД проводили перед ингаляционным воздействием и через 3, 6 и 24 часа после него.

Оценку содержания карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных проводили спектрофотометрическим методом (Крамаренко В.Ф. и др., 1974). Определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови крыс проводили на биохимическом анализаторе «BS-120» (Mindray, Китай) с помощью набора кассет реактивов «Ольвекс» (Россия).

Сбор, хранение и первичную обработку полученных в ходе проведенного исследования данных осуществляли в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2010. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistics 10 for Windows. Данные представлены в виде медианы 25-го и 75-го перцентилей – $Me [Q_{25} \div Q_{75}]$, а также среднего значения M и доверительного интервала m_x . В каждой экспериментальной группе было не менее 6 особей. Проверку на нормальность распределения количественных данных осуществляли по критерию нормальности Колмогорова-Смирнова и критерию Шапиро-Уилка. Для определения показателя токсичности использованных газов использовали метод пробит-анализа по Финни. Использовали непараметрический метод для несвязанных выборок U -критерий Манна-Уитни; для сравнения нескольких независимых групп и определения значимости межгрупповых различий в исследуемых показателях использовали критерий Краскела-Уоллиса. Попарное множественное сравнение проводили с использованием критерия Ньюмена-Кейлса с применением поправки Бонферрони-Данни. Оценку различий зависимых значений проводили с использованием дисперсионного анализа повторных измерений Фридмана, затем проводили проверку, проводя попарное сравнение с помощью критерия Вилкоксона и

поправкой Бонферрони. Для анализа зависимостей использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (Трухачева Н.В., 2013). Для оценки значимости различий выживаемости между группами использовался точный критерий Фишера для таблиц сопряженности (2x2) (Реброва О.Ю., 2006). Средняя величина относительных показателей и ее ошибка определялись с помощью таблиц процентов и их ошибок по В. С. Генесу (Генес В.С., 1967). Для всех видов анализа различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе исследования на модели острой ингаляционной интоксикации диоксидом азота в дозе LC_{t50} исследовали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина, цитофлавина и янтарной кислоты при профилактическом применении. Оценивали летальность, гравиметрические показатели легких крыс и морфогистологическую картину ткани легких, рассчитывали коэффициент защиты. Для исследования лабораторные животные были разделены на восемь групп по 24 крысы-самца (по 6 животных выводились через 3 и 6 часов после ингаляционного воздействия и по 12 через 24 часа), в контрольной группе – 36 крыс.

Антигипоксанты цитофлавин, суназол и амтизол при профилактическом применении при остром тяжелом отравлении диоксидом азота значимо снижают показатель летальности животных (таблица 1). Так, при применении цитофлавина и суназола гибель среди отравленных животных в течение суток не была зарегистрирована, в то время как в контрольной группе погибло 50% крыс. Применение амтизола также приводило к статистически значимому снижению гибели животных на 42% по сравнению с контрольной группой. Тримин и янтарная кислота в двух дозах (25 и 100 мг/кг) значимо не влияли на летальность отравленных животных по сравнению с контрольной группой. На основании полученных данных рассчитывали коэффициент защиты, наибольшие значения для которого были установлены для цитофлавина и суназола – 1,33, амтизола – 1,28.

Таблица 1 – Летальность крыс в 1-е сутки и коэффициент защиты при профилактическом применении антигипоксантов при остром отравлении NO_2 в дозе LC_{t50}

Номер группы	Название группы	Доза, мг/кг	Летальность		Коэффициент защиты, отн.ед
			Погибло/общее	%	
1	Интактная	–	0/12	0	–
2	Контроль (0,9% NaCl)	0,9	12/24	50	–
3	Янтарная кислота	25	7/12	58	0,95
4	Янтарная кислота	100	5/12	42	1,06
5	Тримин	50	3/12	25	1,17
6	Амтизол	25	1/12	8*	1,28
7	Цитофлавин	100	0/12	0*	1,33
8	Суназол	50	0/12	0*	1,33

Примечание:

* – значимые различия по сравнению с контрольной группой по точному критерию Фишера при $p < 0,05$.

Для изучения эффективности антигипоксантов при профилактическом применении уменьшать выраженность токсического отека легких у животных, отравленных

диоксидом азота, оценивали гравиметрические показатели легких (легочный коэффициент, сухой остаток легких и степень гидратации легких) через 3, 6 и 24 часа (таблица 2).

У животных контрольной группы в течение суток легочный коэффициент, сухой остаток легких и степень гидратации легких значительно отличались от показателей интактной группы, что свидетельствует о развитии токсического отека легких.

В контрольной группе у животных за время наблюдения показатели ЛК и СГЛ были наибольшими среди всех групп на протяжении всего времени наблюдения. При применении антигипоксантов амтизола, суназола и цитофлавина гравиметрические показатели ЛК и СГЛ были значительно меньше по сравнению с контрольной группой.

Одним из возможных механизмов действия антигипоксантов амтизола, суназола и цитофлавина при профилактическом применении при остром тяжелом отравлении диоксидом азота является уменьшение степени выраженности токсического отека легких. Антигипоксанты по влиянию на гравиметрические показатели при остром тяжелом отравлении диоксидом азота в порядке убывания их эффективности можно расположить следующим образом: цитофлавин, суназол, амтизол, тримин, янтарная кислота в дозе 100 мг/кг, а затем в дозе 25 мг/кг.

Через 1 сутки после ингаляционного воздействия диоксидом азота в дозе LC_{50} , было проведено морфологическое исследование легких крыс. При вскрытии у погибших животных контрольной группы при макроскопическом исследовании легких визуально определялись признаки выраженного отека паренхимы. Объем легких был значительно увеличен, на разрезе паренхимы наблюдалось отделение жидкости бордового цвета, на поверхности визуализировались многочисленные массивные склонные к слиянию участки темного-красного цвета, в грудной полости отмечалось скопление жидкости в объеме не более 1 мл. При применении антигипоксантов при макроскопическом исследовании визуально легкие были меньше по объему, чем в контрольной группе. Было незначительное количество участков бордового цвета, не отмечалось значительного скопления жидкости в грудной полости.

В группах, где использовались антигипоксанты, при визуальной оценке паренхимы лёгких крыс выявить различия между ними (кроме контрольной группы) было затруднено. Поэтому провели изучение морфогистологических изменений в тканях легких наиболее эффективных антигипоксантов амтизола, цитофлавина и суназола при профилактическом применении.

При исследовании препаратов легких, окрашенных гематоксилином и эозином, у отравленных диоксидом азота животных контрольной группы были выявлены выраженные изменения (рис. 1). Так, в тканях легких визуализировалось резкое полнокровие и дистелектазы, межальвеолярные капилляры были плотно заполнены эритроцитами и утолщены. На значительном протяжении альвеолы были заполнены гомогенной белковой жидкостью. В просвете альвеол содержались нити фибрина, макрофаги и лимфоциты.

По сравнению с контрольной группой на гистологических срезах легких крыс, которым профилактически вводили амтизол, наблюдался положительный эффект (рис. 2). Визуализировалось меньшее количество участков с дистелектазами, только часть межальвеолярных перегородок была утолщена и инфильтрирована лимфоцитами

и макрофагами, незначительное количество вакуолизированных альвеолоцитов. Стенки большинства бронхов были представлены только соединительной тканью, эпителиальные пласты свободно лежали в просвете части бронхов и заполняли их.

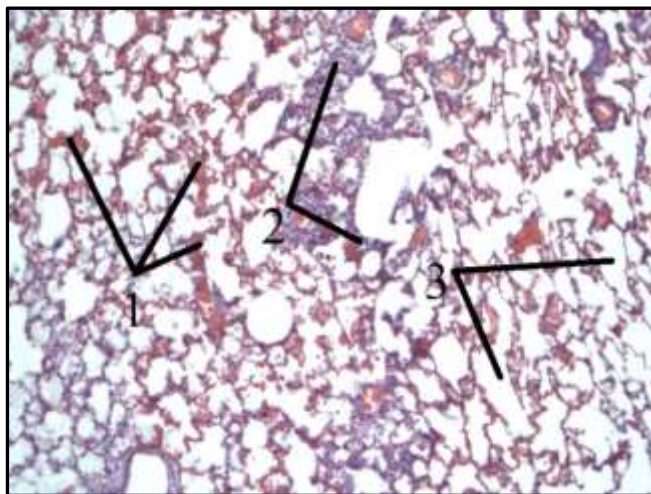


Рисунок 1 – Препарат легкого контрольной группы через 1 сут после интоксикации NO_2 (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$)

Примечание: 1 – полнокровие сосудов;
2 – периваскулярное скопление лимфоцитов;
3 – дистелектазы.

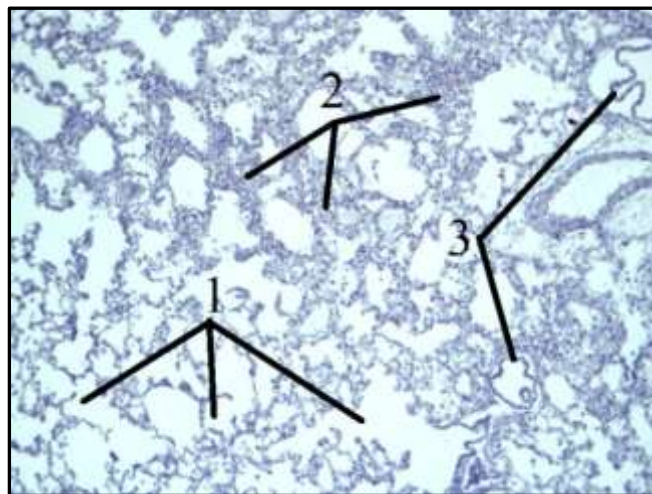


Рисунок 2 – Препарат легкого при профилактическом применении амтизола в дозе 25 мг/кг через 1 сут после интоксикации NO_2 (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$)

Примечание: 1 – дистелектазы; 2 – лимфоциты; 3 – эпителий бронхов.

По сравнению с контрольной группой на гистологических срезах легких отравленных крыс, которым предварительно вводили цитофлавин (рис. 3), большинство альвеол было свободно от содержимого, наблюдалось незначительное количество дистелектазов, в некоторых располагались отдельные макрофаги и только небольшие группы альвеол были заполнены макрофагами и лимфоцитами. Изменения в легких были минимальны, в части бронхов был слущен эпителий, в отдельных альвеолах наблюдались единичные макрофаги.

На фоне профилактического применения суназола для гистологической картины препаратов легких, окрашенных гематоксилином и эозином, по сравнению с контрольной группой характерно незначительное количество макрофагов, альвеол, заполненных экссудатом, представленным макрофагами и лимфоцитами (рис. 4). Меньшее количество альвеол находилось в состоянии дистелектаза. Эпителий части бронхов был слущен и свободно или плотно располагался в просвете бронхов. В просвете некоторых альвеол располагалась белковая жидкость.

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что при профилактическом внутрибрюшинном введении антигипоксантов амтизола, суназола и цитофлавина отмечалось снижение выраженности патологических изменений в тканях легких, вызванных диоксидом азота. Это проявлялось в уменьшении количества дистелектазов, макрофагов в просвете альвеол и межальвеолярных перегородках. Наблюдалось снижение количества альвеол, заполненных белковой жидкостью. Следует отметить, что при исследовании гистологической картины легких наибольший защитный эффект при отравлении NO_2 был установлен для цитофлавина.

Таблица 2 – Гравиметрические показатели легких крыс при профилактическом применении антигипоксантов при остром отравлении NO₂ в дозе LCt₅₀, (Ме [Q₂₅÷Q₇₅])

Номер группы	Название группы	Доза мг/кг	Легочный коэффициент, отн.ед			Сухой остаток легких, %			Степень гидратации легких, %		
			3 ч	6 ч	24 ч	3 ч	6 ч	24 ч	3 ч	6 ч	24 ч
1	Интактная	–	6,05 [5,27÷ 7,03]	6,04 [5,00÷ 6,19]	6,72 [5,43÷ 7,47]	20,61 [19,57÷ 21,59]	25,30 [24,42÷ 26,26]	23,86 [22,83÷ 25,04]	100,0	100,0	100,0
2	Контроль (0,9% NaCl)	0,9	15,42 [14,77÷ 17,24]*	16,52 [14,33÷ 25,10]*	19,56 [17,06÷ 19,94]*	9,87 [7,03÷ 11,19]*	9,25 [8,27÷ 15,41]*	14,77 [12,92÷ 15,41]*	276,1 [259,8÷ 305,4]*	301,1 [261,8÷ 431,5]*	260,4 [243,8÷ 271,7]*
3	Амгизол	25	8,54 [7,21÷ 9,22]#	10,85 [8,52÷ 11,62]#	12,47 [10,92÷ 14,82]*#	17,47 [16,67÷ 18,66]#	14,58 [10,36÷ 16,65]#*	20,59 [18,54÷ 22,28]#	168,5 [150,6÷ 186,5]*#	208,7 [143,5÷ 241,3]*#	161,6 [147,5÷ 190,9]*#
4	Цитофлавин	100	7,95 [7,30÷ 9,74]#	8,52 [6,99÷ 8,82]#	10,07 [9,49÷ 10,94]*#	17,97 [14,19÷ 21,83]#	16,91 [16,53÷ 18,12]#*	21,30 [19,40÷ 22,41]#	152,8 [142,7÷ 167,4]*#	154,3 [139,1÷ 168,5]*#	147,1 [130,4÷ 157,4]*#
5	Суназол	50	7,28 [7,14÷ 7,56]#	7,45 [7,41÷ 7,86]#	12,28 [11,17÷ 14,56]*#	17,65 [16,45÷ 18,98]#	16,66 [16,55÷ 19,00]#*	21,98 [20,88÷ 22,70]#	148,9 [147,8÷ 165,2]*#	162,9 [136,0÷ 168,5]*#	174,5 [163,7÷ 179,0]*#

Примечание:

* – различия (по критерию Ньюмена-Кейлса) значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05);

– различия (по критерию Ньюмена-Кейлса) значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

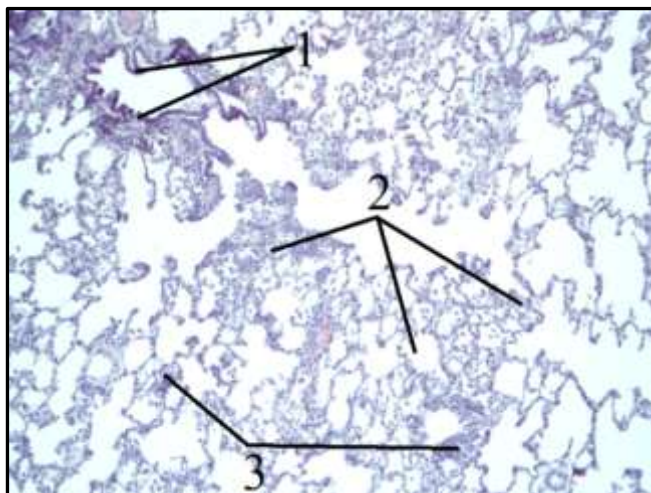


Рисунок 3 – Препарат легкого при профилактическом применении цитофлавина в дозе 100 мг/кг через 1 сут после интоксикации NO_2 (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$)

Примечание: 1 – эпителий бронхов; 2 – дистелектазы; 3 – лимфоциты.

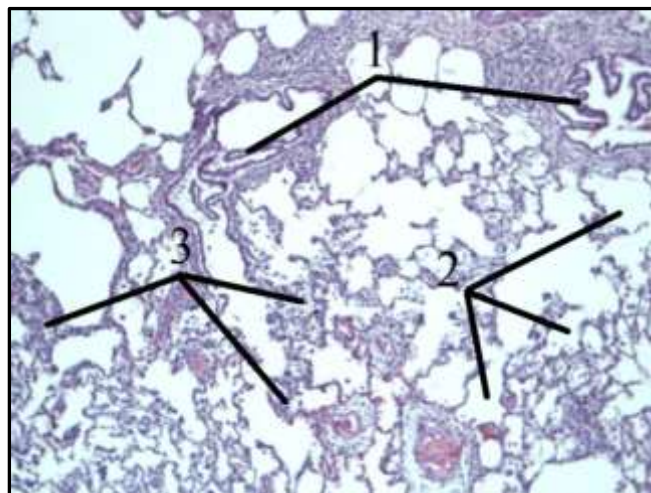


Рисунок 4 – Препарат легкого при профилактическом применении суназола в дозе 50 мг/кг через 1 сут после интоксикации NO_2 (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$)

Примечание: 1 – эпителий бронхов; 2 – дистелектазы; 3 – лимфоциты.

Таким образом, в результате проведённого экспериментального исследования было показано, что при профилактическом применении антигипоксанты амтизол, суназол и цитофлавин оказывают положительный эффект при острой крайне тяжелой интоксикации диоксидом азота.

На втором этапе исследовали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина и цитофлавина при лечебном применении при отеке легких, вызванном диоксидом азота в дозе LC_{50} . Оценивали летальность, гравиметрические показатели легких, частоту дыхания и продолжительность жизни крыс. Животные были разделены на шесть групп по 12 крыс-самцов.

Растворы антигипоксантов вводили внутривенно через 30 минут после ингаляционного воздействия токсиканта в объеме не более 5 мл. Контрольная группа отравленных животных получала физиологический раствор (0,9% NaCl) в равном объеме.

В результате проведенного исследования установлено, что антигипоксанты амтизол, суназол, тримин и цитофлавин при лечебном введении при остром отравлении NO_2 значимо не оказывают влияния на показатель летальности животных (таблица 3). Хотя, при применении цитофлавина в дозе 100 мг/кг, количество погибших животных было в 2 раза меньше, чем в контрольной группе.

В этом исследовании дополнительно было оценено влияние антигипоксантов на сроки гибели животных (таблица 3).

При применении антигипоксантов амтизола, суназола и тримина продолжительность жизни крыс была больше ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой в 1,5, 1,6 и 1,7 раза соответственно. Применение цитофлавина значимо увеличивало продолжительность жизни погибших животных в 2,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3 – Летальность крыс в 1-е сутки при лечебном применении антигипоксантов при остром отравлении NO₂ в дозе LCt₅₀

Номер группы	Название группы	Доза, мг/кг	Летальность		Продолжительность жизни, мин (Me [Q ₂₅ ÷Q ₇₅])
			погибло/общее	%	
1	Интактные	–	0/12	0	–
2	Контроль (0,9% NaCl)	0,9	8/12	66	315 [128÷515]
3	Тримин	50	6/12	50	540 [417÷573]
4	Амтизол	25	6/12	50	469 [315÷694]
5	Цитофлавин	100	4/12	33	805 [672÷959]*
6	Суназол	50	6/12	50	506 [398÷722]

Примечание:
* – различия (по U – критерию Манна-Уитни) значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05)

Анализ гравиметрических показателей при лечебном введении антигипоксантов при остром отравлении NO₂ показал отсутствие статистически значимых изменений у отравленных животных к концу первых суток по сравнению с контрольной группой.

В результате проведенного исследования по оценке эффективности антигипоксантов при лечебном применении при остром отравлении диоксидом азота в концентрации LCt₅₀, установлено, что антигипоксанты цитофлавин, суназол, амтизол и тримин не оказывали значимого влияния на летальность животных и гравиметрические показатели легких крыс, при этом увеличивали продолжительность жизни погибших отравленных животных.

На третьем этапе на модели отека легких, вызванного фосгеном в дозе LCt₅₀, исследовали эффективность антигипоксантов амтизола, суназола, тримина и цитофлавина при лечебном применении. Оценивали летальность, гравиметрические показатели легких и функцию внешнего дыхания крыс.

В результате проведенного исследования было установлено, что антигипоксанты амтизол, суназол, тримин и цитофлавин при лечебном введении на модели токсического отека легких, вызванного фосгеном в дозе LCt₅₀, значимо не влияют на летальность животных. Гибель животных регистрировалась через 6 ч после начала интоксикации, при этом значимых различий между группами установлено не было.

При оценке гравиметрических показателей у животных, отравленных фосгеном, наблюдалось статистически значимое увеличение ЛК и СГЛ и снижение СОЛ по сравнению с интактными животными, что свидетельствует о развитии токсического отека легких у крыс (таблица 4). По сравнению с контрольной группой животных ни в одной из групп, где применяли антигипоксанты, значимых отличий не было выявлено. Таким образом, антигипоксанты при лечебном введении не оказывают значительного эффекта на выраженность токсического отека легких.

Из полученных данных следует, что при лечении ТОЛ, вызванного, как диоксидом азота, так и фосгеном, монотерапия антигипоксантами малоэффективна.

На четвертом этапе исследования создали модель сочетанного ингаляционного отравления диоксидом азота и оксидом углерода в различных концентрациях. Для изучения токсического действия сочетания газов СО и NO₂ животных разделили на 8

групп по 12 крыс в каждой. Результаты эксперимента по показателю летальности представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Летальность крыс в 1-е сутки при сочетанном ингаляционном воздействии CO и NO₂ в различных концентрациях, %

Номер группы	Концентрация газов		Погибло, %			Выжило, %
	CO	NO ₂	в камере	в течение суток	всего	через 1 сутки
1	LCt ₁₆	–	8	0	8	92
2	–	LCt ₁₆	0	17	17	83
3	LCt ₅₀	–	50	0	50	50
4	–	LCt ₅₀	0	50	50	50
5	LCt ₁₆	LCt ₁₆	33	17	50	50
6	LCt ₅₀	LCt ₁₆	83#	0	83#	17#
7	LCt ₁₆	LCt ₅₀	67*×	25	92*	8*
8	LCt ₅₀	LCt ₅₀	100^×	0	100^×	0^×

Примечание:

* – значимые различия по сравнению с группой 1 по точному критерию Фишера при $p < 0,05$;

– значимые различия по сравнению с группой 2 по точному критерию Фишера при $p < 0,05$;

^ – значимые различия по сравнению с группой 3 по точному критерию Фишера при $p < 0,05$;

× – значимые различия по сравнению с группой 4 по точному критерию Фишера при $p < 0,05$;

в каждой группе $n = 12$

При постоянной концентрации CO повышение уровня диоксида азота приводило к повышению летальности животных во время нахождения их в затравочной камере. Важно отметить, что при сочетанном ингаляционном воздействии у всех животных, погибших, как в камере, так и в течение первых суток после ингаляционного воздействия, на вскрытии при макроскопическом исследовании наблюдались признаки отека легких. Степень их выраженности зависела от концентрации используемого диоксида азота.

Гравиметрические показатели легких крыс также свидетельствуют о наличии отека (таблица 5). В связи с высокой летальностью животных 6-й, 7-й и 8-й групп в камере исследование гравиметрических показателей легких не проводилось.

Анализируя информацию, полученную в ходе проведенного эксперимента, можно предположить, что токсическое действие оксида углерода, при сочетанной интоксикации, в первую очередь определяет гибель животных, о чем свидетельствует высокий процент летальности крыс в камере. Однако NO₂, инициируя развитие отека легких, вносит значительный вклад в развитие токсического процесса. В дополнительной серии экспериментов провели сравнительную оценку содержания карбоксигемоглобина в крови у экспериментальных животных отравленных только CO (LCt₁₆) (группа 1) и сочетанием CO (LCt₁₆) и NO₂ (LCt₁₆) (группа 2). Летальность в 1-й группе крыс составила 8%, во 2-й – 50%. Уровень карбоксигемоглобина в крови животных определяли сразу после их извлечения из затравочной камеры. Во 2-й группе животных карбоксигемоглобин определяли как у выживших, так и у погибших крыс (погибло 6 животных).

Таблица 5 – Гравиметрические показатели легких выживших крыс через 24 ч после сочетанного ингаляционного воздействия CO и NO₂ в различных концентрациях, (Ме [Q₂₅÷Q₇₅])

Группа	Концентрация газов		Легочный коэффициент, отн. ед	Сухой остаток, %	Степень гидратации легких, %
	CO	NO ₂			
Интактные	–	–	6,66 [6,15÷7,19]	22,61 [21,84÷22,93]	100,0
1	LCt ₁₆	–	5,84 [4,90÷6,73]#	20,59 [19,72÷23,19]	97,4 [87,2÷116,7]#
2	–	LCt ₁₆	8,55 [8,12÷9,41]	17,72 [17,05÷19,20]*	167,3 [162,8÷178,2]*
3	LCt ₅₀	–	5,25 [4,74÷5,54]#	19,43 [18,75÷20,83]	82,7 [74,4÷92,3]#
4	–	LCt ₅₀	12,73 [10,69÷13,67]*#	17,99 [15,31÷20,92]*	225,0 [197,4÷257,7]*#
5	LCt ₁₆	LCt ₁₆	7,02 [6,79÷7,37]#	15,89 [15,38÷18,00]*	129,5 [125,6÷134,6]*#

Примечание:
 * – различия (по критерию Ньюмена-Кейлса) значимы по сравнению с группой Интактные (p<0,05);
 # – различия (по критерию Ньюмена-Кейлса) значимы по сравнению со 2-й группой (p<0,05);
 в каждой группе n = 12

Уровень карбоксигемоглобина в крови крыс при изолированном воздействии оксида углерода был равен 70 [67÷73]%. При исследовании уровня HbCO в крови крыс 2-й группы он был значимо выше по сравнению с 1-й группой и равен 80 [77÷82] и 85 [84÷87]% соответственно. При этом отсутствовало значимое различие в уровне карбоксигемоглобина в крови выживших и погибших животных. Можно предположить, что повышение летальности крыс в камере и уровня карбоксигемоглобина в крови животных при сочетанном ингаляционном воздействии монооксида углерода и диоксида азота, по-видимому, связано с нарушением газотранспортной функции в легких из-за изменений в проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны.

При гистологическом исследовании лёгких крыс через 24 ч после сочетанного ингаляционного воздействия CO и NO₂ в дозах LCt₁₆ воздушность легочной ткани равномерно снижена на значительной площади, на этом фоне имеется эмфизематозное вздутие отдельных альвеол (рисунок 5). Крупные бронхи расширены, эпителий слизистой оболочки крупных бронхов в целом сохранен, наблюдается десквамация части трансформированных эпителиальных клеток в просвет бронхов. Эпителий слизистой оболочки бронхов среднего калибра, бронхиол с фокусами деструкции, с явлениями полиморфизма и гиперхроматоза ядер сохранных эпителиальных клеток. Подслизистые отделы стенок бронхов неравномерно инфильтрированы лимфоцитами, плазматическими клетками с примесью эозинофильных и нейтрофильных гранулоцитов. Перибронхиальная лимфоидная ткань скудная, не формирует фолликулов. Межалвеолярные перегородки частью утолщены за счет полнокровия и неравномерной диффузно-очаговой полиморфноклеточной (лимфо-плазмоцитарной с примесью немногочисленных эозинофильных или нейтрофильных лейкоцитов) инфильтрации. В просвете значительной части альвеол расположены скопления эритроцитов,

десквамированных клеток трансформированного альвеолярного эпителия, полиморфноядерных лейкоцитов и белковой отечной жидкости. Висцеральная плевро обычного строения.

Для гистологической картины лёгких крыс через 24 ч после сочетанного ингаляционного воздействия CO в дозе LCt_{50} и NO_2 в дозе LCt_{16} характерно неравномерное умеренное снижение воздушности легочной ткани (рисунок 6). Имеются мелкие очаги субплеврального эмфизематозного вздутия. Крупные бронхи обычного строения, не содержат в просвете патологических депозитов. Эпителий слизистой оболочки крупных бронхов сохранен, слизиобразование избыточно. Для эпителия слизистой оболочки бронхов среднего калибра, бронхиол с мелкими и более крупными участками характерно утолщение эпителиального пласта, формирование псевдососочковых структур, с явлениями полиморфизма и гиперхроматоза ядер эпителиальных клеток. Подслизистые отделы стенок бронхов неравномерно инфильтрированы лимфоцитами, плазматическими клетками с примесью немногочисленных эозинофильных гранулоцитов. Перибронхиальная лимфоидная ткань скудная, формирует вокруг крупных бронхов немногочисленные некрупные лимфоидные фолликулы, частью с герминативными центрами. Межалвеолярные перегородки частью утолщены за счет полнокровия и неравномерной полиморфноклеточной (лимфо-плазматической с примесью немногочисленных эозинофильных или нейтрофильных лейкоцитов) инфильтрации. В просвете части альвеол расположены скопления эритроцитов, десквамированных клеток трансформированного альвеолярного эпителия и белковая отечная жидкость. Висцеральная плевро обычного строения.

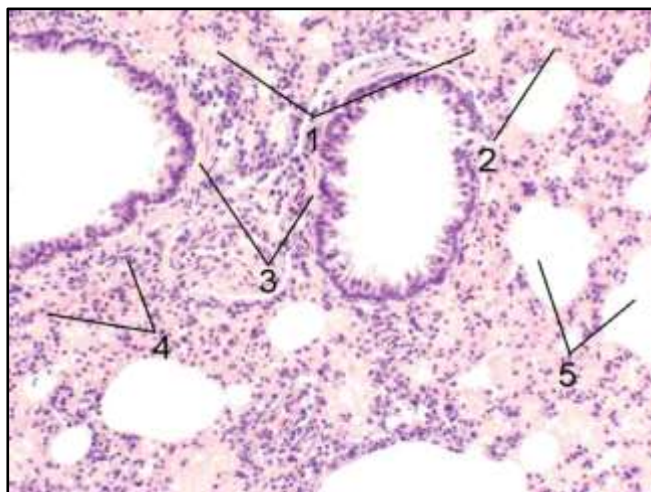


Рисунок 12 – Препарат легкого при сочетанном ингаляционном воздействии CO и NO_2 в дозах LCt_{16} (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$)

Примечание: 1 – белковая отечная жидкость; 2 – эритроциты; 3 – перибронхиальное пространство; 4 – лимфоциты; 5 – просвет альвеол

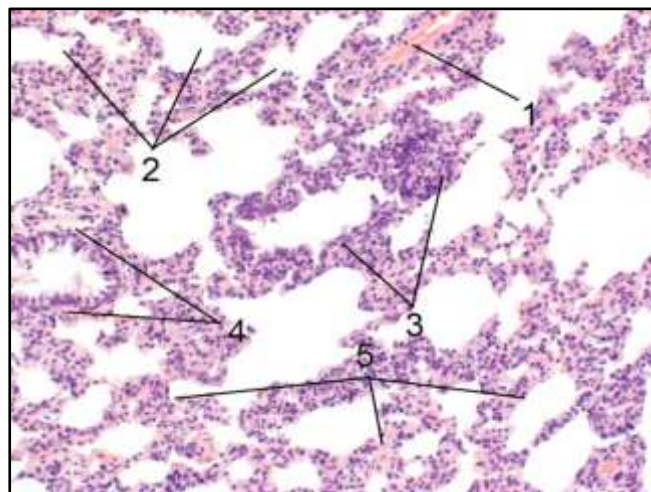


Рисунок 14 – Препарат легкого при сочетанном ингаляционном воздействии CO в дозе LCt_{50} и NO_2 в дозе LCt_{16} (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$)

Примечание: 1 – эритроциты; 2 – просвет альвеол; 3 – лимфоциты; 4 – перибронхиальное пространство; 5 – белковая отечная жидкость.

Представленные данные свидетельствуют о том, что при сочетанном ингаляционном воздействии CO и NO₂ в разных дозах отмечается снижение воздушности ткани легких и развитие признаков её отека, который вызван диоксидом азота. При изолированном действии монооксида углерода выраженных признаков токсического отека легких при гистологическом исследовании не обнаружено. При сочетанном воздействии CO и NO₂ по мере роста концентрации диоксида азота в смеси газов наблюдается увеличение количества альвеол, заполненных белковой жидкостью, эритроцитов, а также десквамированных клеток трансформированного альвеолярного эпителия.

Проведенные исследования позволили выбрать модель сочетанного ингаляционного воздействия монооксида углерода и диоксида азота для оценки эффективности антигипоксантов суназола и цитофлавина при профилактическом применении. Для этого использовали смесь газов монооксида углерода и диоксида азота в дозах равных LCt₁₆, время экспозиции составило 15 мин.

Результаты эксперимента представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Летальность крыс в 1-е сутки при профилактическом применении антигипоксантов при сочетанном ингаляционном воздействии CO и NO₂ в дозах LCt₁₆, (Me [Q₂₅÷Q₇₅])

Номер группы	Препарат	Доза, мг/кг	Погибло, %			Выжило, % через 1 сутки	Коэффициент защиты
			в камере	в течение суток	всего		
1	Интактная	–	–	–	–	–	–
2	Контроль (0,9% NaCl)	0,9	83	0	83	17	–
3	Цитофлавин	100	83	0	83	17	1,00
4	Суназол	50	33	0	33	67*	1,43

Примечание:

* – значимые различия по сравнению с группой 2 по точному критерию Фишера при p<0,05; в каждой группе n = 12.

При сочетанном ингаляционном воздействии оксида углерода и диоксида азота в дозах LCt₁₆ гибель животных наступала непосредственно в камере во время интоксикации и составила при применении суназола 33%, что было значимо меньше по сравнению с контрольной группой, где летальность составила 83%, как и при применении цитофлавина. В течение следующих после интоксикации суток гибель животных не наблюдалась.

Исследование легочного коэффициента крыс, отравленных диоксидом азота и монооксидом углерода, также подтвердило развитие отека легких (рисунок 5). В контрольной группе животных легочный коэффициент был значимо больше по сравнению с показателем в интактной группе животных. При применении цитофлавина легочный коэффициент был значимо больше по сравнению с интактной и меньше по сравнению с контрольной группой. При применении суназола легочный коэффициент был значимо меньше по сравнению с контрольной группой и значимо не отличался при сравнении с интактной.

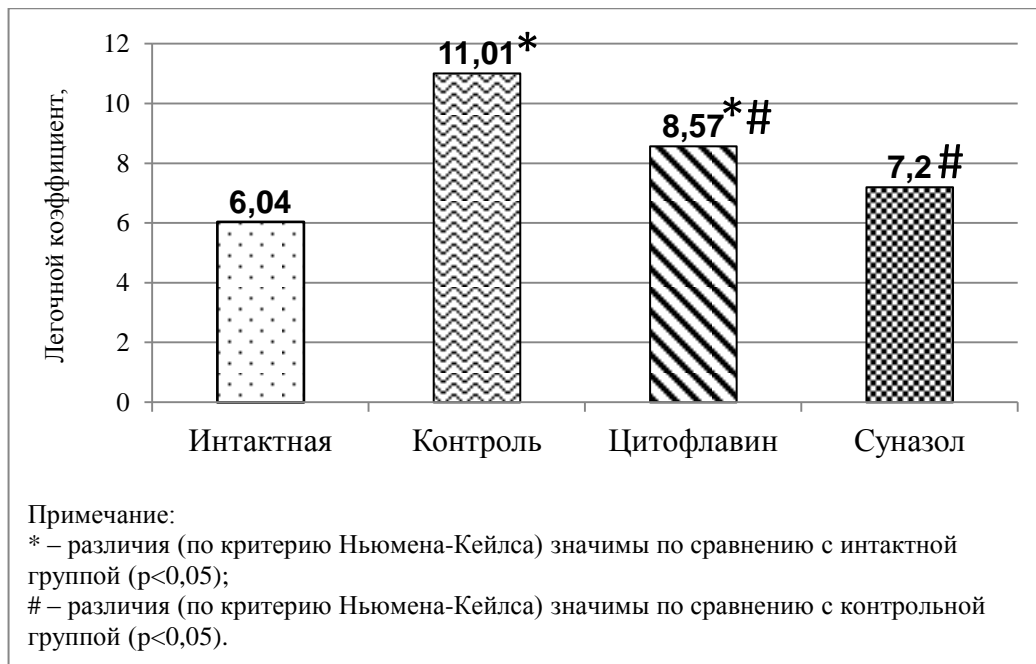


Рисунок 5 – Легочный коэффициент крыс через 24 ч при профилактическом применении антигипоксантов при сочетанном ингаляционном воздействии CO и NO₂ в дозах LCt₁₆, (Me)

Из представленных выше данных следует, что наибольшая эффективность при профилактическом применении при сочетанном отравлении CO и NO₂ установлена для суназола.

ВЫВОДЫ

1. Антигипоксанты суназол в дозе 50 мг/кг, цитофлавин в дозе 100 мг/кг (по янтарной кислоте), амтизол в дозе 25 мг/кг снижали летальность крыс, и степень выраженности токсического отека легких при профилактическом применении за 30 минут до изолированного ингаляционного воздействия диоксида азота в дозе LCt₅₀.
2. Антигипоксанты амтизол, суназол и цитофлавин при профилактическом применении снижали выраженность патоморфологических изменений, вызванных диоксидом азота в дозе LCt₅₀, в тканях легких крыс, что проявлялось в уменьшении количества дистелектазов, макрофагов в просвете альвеол и межальвеолярных перегородках, снижении количества альвеол заполненных белковой жидкостью.
3. Амтизол в дозе 25 мг/кг, суназол в дозе 50 мг/кг, тримин в дозе 50 мг/кг и цитофлавин в дозе 100 мг/кг (по янтарной кислоте) при введении через 30 минут после изолированного ингаляционного воздействия диоксида азота, а также фосгена в дозах LCt₅₀ не оказывали значимого влияния на показатель летальности крыс и степень выраженности отека легких через сутки после действия токсиканта.
4. Диоксид азота при сочетанном ингаляционном воздействии с монооксидом углерода вызывал развитие токсического отека легких, при этом увеличивалась летальность, повышался уровень карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных, и характеризовался патоморфологическими изменениями в легких крыс.
5. Антигипоксант суназол в дозе 50 мг/кг при профилактическом применении за 30 минут до сочетанного ингаляционного воздействия диоксида азота и монооксида углерода в дозах LCt₁₆ снижал степень выраженности отека легких и летальность крыс.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная модель сочетанного ингаляционного воздействия СО и NO₂ может быть рекомендована для оценки эффективности лекарственных препаратов при профилактике и лечении токсического отека легких, возникающего при ингаляционном воздействии токсичных компонентов пожаров.

2. Антигипоксанта суназол может быть рекомендован для дальнейшего изучения в качестве средства профилактики возникновения и уменьшения степени выраженности токсического отека легких при сочетанном ингаляционном воздействии токсичных компонентов пожаров.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сарманаев, С.Х. Токсико-химическое поражение на пожаре / С.Х. Сарманаев, В.А. Башарин, К.А. Шербашов [и др.] // Биомедицинский журн. Medline.ru. – 2015. – Т.16. – С. 434-442.

2. Шербашов, К.А. Проблема токсического отека легких при отравлении продуктами горения полимерных материалов / К.А. Шербашов, Р.С. Бобоев // Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии: Тезисы докладов Российской научной конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 4-6 июня 2015 г. / Составитель: А.Н. Гребенюк – СПб: Фолиант, 2015. – С. 132.

3. Шербашов, К.А. Проблема фармакологической коррекции токсического отека легких / К.А. Шербашов, Т.Н. Преображенская // Сборник материалов Российской научной конференции «Фармакология экстремальных состояний» посвященная 150-летию Н.П. Кравкова. – СПб.: Изд-во «Издательство Н-Л», 2015. – С. 199.

4. Шербашов, К.А. Токсический отек легких при отравления продуктами горения пенополистирола самозатухающего / К.А. Шербашов, Р.С. Бобоев, Б.А. Рыданов // Вестн. Росс. Воен.-мед. акад. – 2015. – Т. 4, №52. – С. 113.

5. Шербашов, К.А. Экспериментальная оценка эффективности антигипоксантов при токсическом отеке легких, вызванном оксидом азота (IV) / К.А. Шербашов, В.А. Башарин, В.В. Марышева [и др.] // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. – 2016. – Т. 14, № 2. – С. 65-68.

6. Венгерович, Н.Г. Изучение безопасности комбинации фентанила и дексмететомидина в экспериментальной модели дыхательной недостаточности / Н.Г. Венгерович, М.А. Юдин, К.А. Шербашов [и др.] // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. – 2016. – Т. 14, № 3. – С. 53-57.

7. Шербашов, К.А. Профилактическое применение антигипоксанта суназол при остром ингаляционном отравлении диоксидом азота / К.А. Шербашов, В.А. Башарин, П.Д. Шабанов / Известия Российской военно-медицинской академии. – 2017. – Т. 36, № 2 (1). – С. 146-147.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДО	–	дыхательный объем
КЗ	–	коэффициент защиты
ЛК	–	легочный коэффициент

МК	–	мочевая кислота
МОД	–	минутный объем дыхания
МЧС	–	министерство по чрезвычайным ситуациям
ОПЛ	–	острое повреждение легких
ОРДС	–	острый респираторный дистресс-синдром
ПСВыдоха	–	пиковая скорость выдоха
СГЛ	–	степень гидратации легких
СОЛ	–	сухой остаток легких
ТОЛ	–	токсический отек легких
ФВД	–	функция внешнего дыхания
ЧД	–	частота дыхания
НЬСО	–	карбоксигемоглобин
LCt ₅₀	–	средне смертельная токсодоза