

УДК 615.276:616.24-005.98:616-092.9:616-002.1

*Г.Л. Литвиненко, Ю.Б. Ларьяновська, С.В. Власов*  
*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

## **ВПЛИВ РЕЧОВИНИ L486-0021 НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ НАБРЯКУ ЛЕГЕНІВ**

Показано, що речовина L486-0021 справляла виразний позитивний вплив на морфологічний стан легеневої паренхіми щурів. Лікувальне введення речовини L486-0021 у дозі 10 мг/кг сприяло збереженню альвеолярного рисунка тканини у 57 % тварин, ділянок зі значним випотом еритроцитів не виявлено; у 60 % тварин, які отримували лікування речовиною L486-0021 у вказаній дозі, стан залишався задовільним до завершення експерименту (2 год). Антиексудативна активність сягала 70,1 %, що перевищувало активність препарату порівняння Лорноксикам в 1,8 раза.

**Ключові слова:** *гостре запалення, набряк легенів, щури, нестероїдні протизапальні засоби.*

Набряк легенів – це тяжкий, загрозливий для життя патологічний стан, що виникає внаслідок пропотівання рідкої частини крові з судинного русла через альвеолярно-капілярну стінку в інтерстиціальну та повітроносну частину легенів, клінічно проявляється тяжкою дихальною недостатністю [1].

У дослідженнях, проведених нами раніше, було показано, що речовина під шифром L486-0021 в умовах хронічного аутоімунного запалення на тлі ад'ювантного артриту виявила виразну терапевтичну ефективність. Тому було доцільним дослідити її дію при гострій патології, для чого використовували модель гострого токсичного набряку легенів в умовах інтоксикації амонію хлориду ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) [2]. В легенях амонію хлорид подразнює мембрани альвеол, внаслідок чого розвиваються виражена гіпоксія і ацидоз, які, у свою чергу, збільшують проникність гематоплеврального бар'єра, що в кінцевому результаті призводить до розвитку альвеолярного набряку легенів (модель із перевагою ексудації) [3].

Метою дослідження було вивчити вплив нової хімічної речовини L486-0021 у дозах  $\text{ED}_{50} = 1$  мг/кг (встановленою за антиексудативною активністю на моделі гострого карагієнового запалення) та  $\text{ED}_{50} = 10$  мг/кг на морфофункціональний стан легеневої тканини при гострому токсичному набряку легенів у щурів.

© Г.Л. Литвиненко, Ю.Б. Ларьяновська, С.В. Власов, 2014

**Матеріал і методи.** В роботі використано модель гострого набряку легенів, який викликали шляхом внутрішньоочеревинного введення 6%-вого розчину амонію хлориду ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) із розрахунку 400 мг/кг [4]. Дослідження проведено на 35 безпородних щурах-самцях масою тіла 180–200 г, яких утримували в стандартних санітарних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ. Під час експерименту тварини перебували при  $t = 20\text{--}25$  °С, вологості не більше 55 %, природному світловому режимі день–ніч [5]. Дослідження проведені з дотриманням правил біоетики, що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986).

Усіх тварин було розподілено на п'ять груп по 7 щурів у кожній: 1-ша група – інтактний контроль (ІК); 2-га – контрольна патологія (КП) – тварини, яким на тлі патології вводили дистильовану воду в дозі 1 мл/100 г; 3-тя – тварини, які отримували речовину L486-0021 у дозі 1 мг/кг; 4-та – тварини, які отримували досліджувану речовину L486-0021 у дозі 10 мг/кг; 5-та – тварини, яким вводили препарат порівняння Лорноксикам у дозі 3,6 мг/кг. Доза для препарату порівняння була перерахована з добової дози для людини з використанням коефіцієнта видової стійкості за методом Ю.П. Риболовлева [6]. Досліджувані

речовини та препарат порівняння вводили внутрішньошлунково за годину до введення  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Спостереження за тваринами проводили від моменту введення  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Щурів, що залишилися живими, виводили з експерименту через дві години після відтворення патології шляхом декапітації. Щури 2-ї групи гинули протягом перших 7–10 хв; 3-ї групи – 15–25 хв; 4-ї групи – загибель відмічалась у трьох щурів через 25–35 хв, а у чотирьох щурів стан залишався задовільним до завершення експерименту (2 год); тварини 5-ї групи гинули поступово через 25–50 хв після відтворення патології, двоє щурів вижили протягом двох годин, хоча їх загальний стан був важким. Шматочки тканин легенів тварин усіх груп фіксували у 10%-вому розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином [7].

Для зручності порівняння стану легеневої паренхіми тварин усіх експериментальних груп на мікропрепаратах визначали умовний ступінь виразності деяких морфологічних ознак патологічних змін за 5-бальною шкалою. За основу взято напівкількісну візуальну оцінку потужності забарвлення мікроструктур при гістохімічних реакціях за методом В.В. Соколовського [8]. Виразність альвеолярного набряку: 4 бали – набрякла рідина виявлена майже у 100 % альвеол у препараті – ознака дуже виражена; 3 бали – набрякла рідина виявлена у 2/3 альвеол у полі зору мікроскопа – ознака виражена; 2 бали – набрякла рідина виявлена у 1/2 альвеол у полі зору мікроскопа – ознака помірно виражена; 1 бал – набрякла рідина виявлена у 1/3 альвеол у препараті – ознака слабо виражена; 0 балів – набрякла рідина в альвеолах відсутня – ознака відсутня.

Ступінь збереження альвеолярного малюнка: 4 бали – типовий малюнок тканини простежено на всій площі мікропрепарату; 3 бали – типовий малюнок тканини збережено на 2/3 площі мікропрепарату; 2 бали – типовий малюнок тканини збережено на 50 % площі мікропрепарату; 1 бал – типовий малюнок тканини збережено на 1/3 площі мікропрепарату; 0 балів – типовий малюнок тканини не збережено на всій площі мікропрепарату.

Потужність венозного застою: 4 бали – масивні крововиливи у тканині з руйнацією мережі кровоносних капілярів; 3 бали – тром-

боз капілярів міжальвеолярних перегородок, просякнення еритроцитами перивазальних просторів, кров у порожнині альвеол; 2 бали – стаз еритроцитів і розширення капілярів міжальвеолярних перегородок; 1 бал – збільшення еритроцитів у капілярній мережі міжальвеолярних перегородок.

Мікроскопію і фотографування мікропрепаратів здійснено на мікроскопі Micros 400 (Австрія), доукомплектованому цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500.

Цифрові дані оброблено методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Крускала–Уоліса та Манна–Уїтні з поправкою Бонфероні [9].

**Результати та їх обговорення.** У тварин групи ІК паренхіма респіраторного відділу легеневої тканини була з добре розвинутими альвеолярними ходами, альвеолярними мішечками та альвеолами, що розділені тонкими міжальвеолярними перегородками, численними бронхіолами. Альвеолярний рисунок не порушений, ознак альвеолярного набряку, проліферативних явищ з боку міжальвеолярних перегородок не відмічено. Частина альвеол знаходилася у стані помірного спадання, частина – компенсаторно помірно розширена (як наслідок розкриття грудної порожнини). Лімфоцитарна реакція у стромі бронхіального дерева помірна. Капіляри міжальвеолярних перегородок, внутрішньоорганні кровоносні судини, перивазальні простори без особливостей (рис. 1).

Внутрішньоочеревинне введення амонію хлориду викликає в легенях щурів групи КП дифузний альвеолярний набряк. Альвеоли заповнені білковою рідиною, яка мала вигляд блідої еозинофільної маси, з клітинами крові, нечисленними злущеними клітинами альвеолярного епітелію. По краях або в середині її містилися невеликі порожнини – міхурки повітря, що примішувалися до неї. Набрякла рідина часто розтягувала і спотворювала контури альвеол (рис. 2, а). Ступінь заповнення альвеол рідиною був різним, тому чіткість міжальвеолярних перегородок виразно коливалася або не визначалася зовсім, що мало вигляд безладного скупчення клітин. У місцях зі збереженими міжальвеолярними перегородками кровоносні капіляри розширені, часто переповнені кров'ю, де відмічався стаз еритроцитів (рис. 2, б). Легеневі судини різного

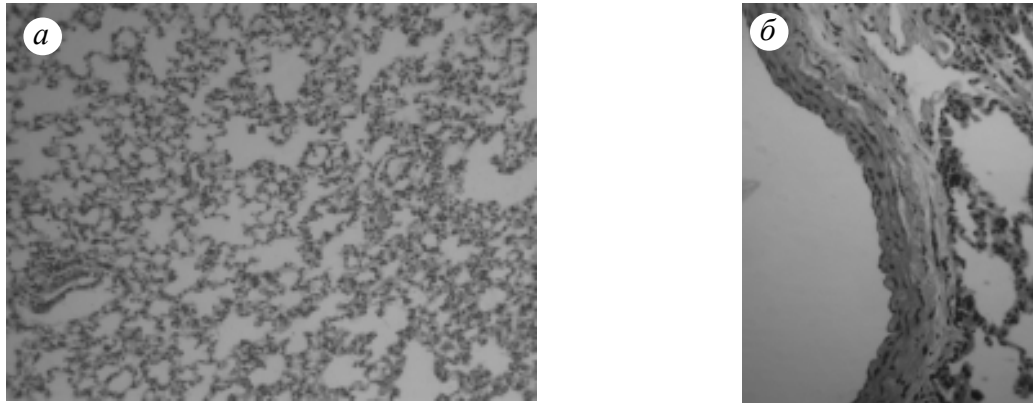


Рис. 1. Респіраторний відділ легеневої тканини інтактного щура:  
*a* – нормальний альвеолярний рисунок паренхіми,  $\times 200$ ; *б* – стінка вени не пошкоджена, перивазальна тканина не змінена,  $\times 250$ . Забарвлення гематоксилін-еозином

калібру повнокровні, сама судинна стінка (переважно венозні судини) вогнищево розпушена, плазматично просякнута. Місцями просвіт альвеол повністю заповнений тільки еритроцитами, що одночасно з крововиливами в міжальвеолярних перегородках і руйнуванням їх внаслідок цього створювало вигляд суцільного «залиття» кров'ю цих ділянок паренхіми (рис. 2, *в*). Перивазальні простори розширені, набрякли, в них не рідкі крововиливи. Одночасно з альвеолами, які виповнені серозним випотом, зустрічалися і такі, що були вільні від нього. Такі альвеоли, як правило, емфіземоподібно розтягнуті внаслідок явищ гострої емфіземи, що настає одночасно з набряком легенів. Внаслідок всього цього виразно порушено альвеолярний рисунок легеневої паренхіми (рис. 2).

У щурів, які отримували речовину L486-0021 у дозі 1 мг/кг, на мікропрепаратах легенів

виявлено ознаки виразного дифузного альвеолярного набряку, випоту еритроцитів і клітин крові у просвіт альвеол, розширення перивазальних просторів, білковий набряк їх, руйнування рисунка тканини (рис. 3).

Збільшення дози введеної речовини L486-0021 до 10 мг/кг виразно позитивно впливало на морфологічний стан легеневої паренхіми щурів. У 57 % тварин альвеолярний рисунок тканини збережено (рис. 4, *a*), лише дрібні поодинокі ділянки містили альвеоли з незначним вмістом пристінкової білкової рідини (рис. 4, *б*). Практично відсутні були мікроциркуляторні розлади, зміни стану перивазальних просторів (рис. 4, *в*).

У щурів 5-ї групи, яким вводили препарат порівняння Лорноксикам, мікроскопічна картина легеневої паренхіми коливалася. У 71,4 % щурів розвився дифузний альвеолярний набряк за мікроскопічною картиною, аналогічний на-

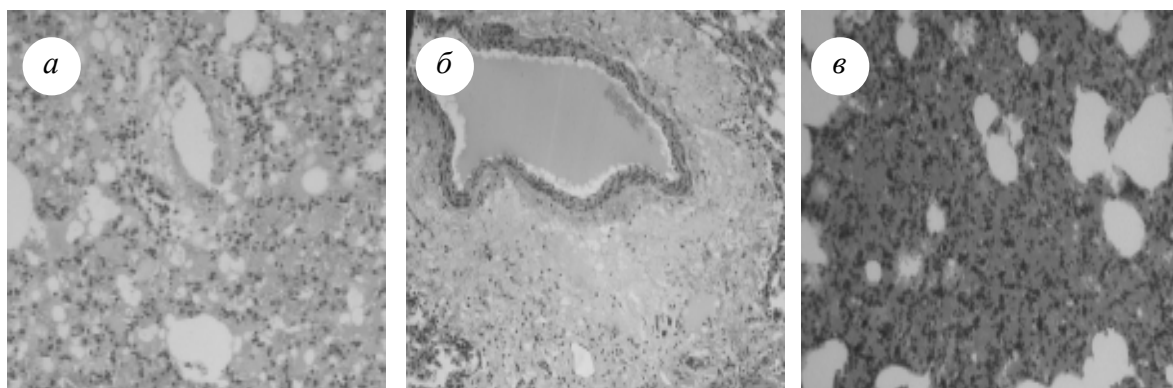


Рис. 2. Респіраторний відділ легеневої тканини щура, якому вводили амонію хлорид:  
*a* – набрякова рідина у порожнині альвеол, рисунок тканини спотворений; *б* – різке розширення перивазального простору, просякнення його набряклою рідиною та еритроцитами; *в* – еритроцити в порожнині альвеол. Забарвлення гематоксилін-еозином,  $\times 200$

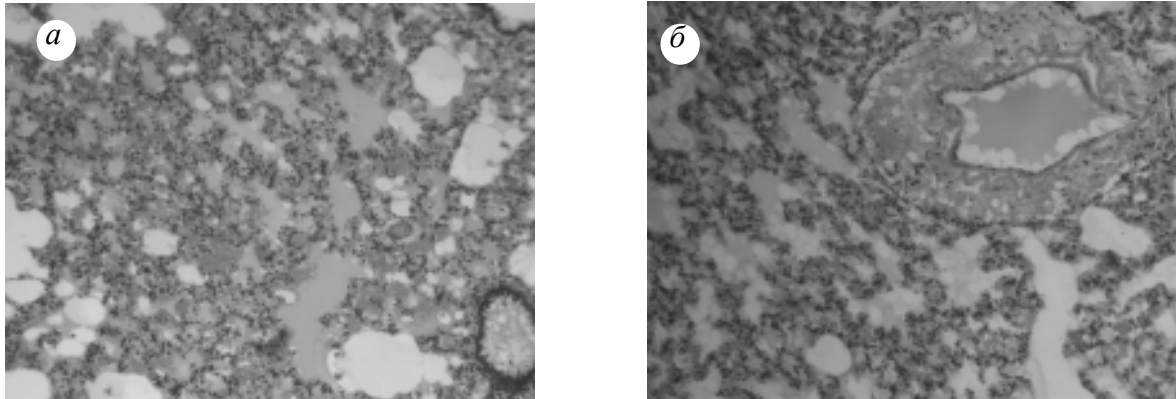


Рис. 3. Респіраторний відділ легеневої тканини щура, якому попередньо до амонію хлориду вводили речовину L486-0021 у дозі 1 мг/кг:  
*a* – білкова рідина в альвеолах; *б* – розширення і набряк перивазальних просторів.  
 Забарвлення гематоксилін-еозином,  $\times 200$

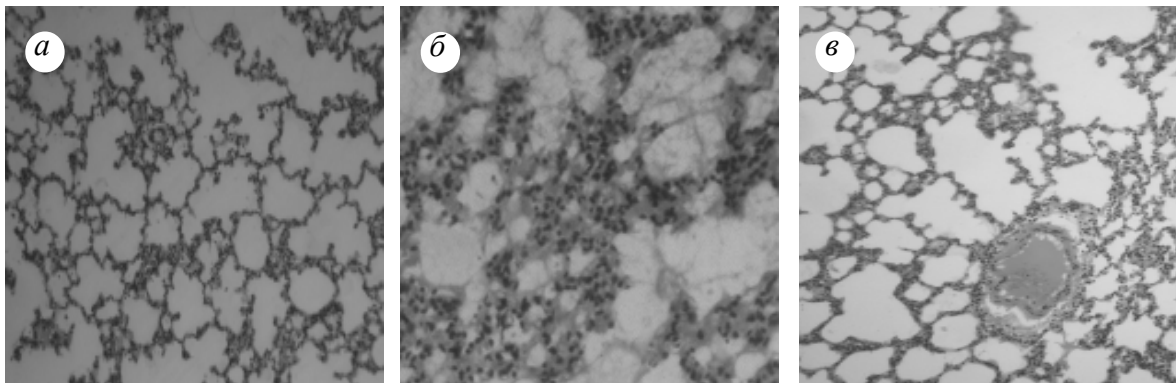


Рис. 4. Респіраторний відділ легеневої тканини щура, якому профілактично до амонію хлориду вводили речовину L486-0021 у дозі 10 мг/кг:  
*a* – відновлення альвеолярного рисунка,  $\times 100$ ; *б* – незначний вміст білкової рідини пристінково в альвеолах,  $\times 200$ ; *в* – нормальний стан перивазального простору,  $\times 200$ .  
 Забарвлення гематоксилін-еозином

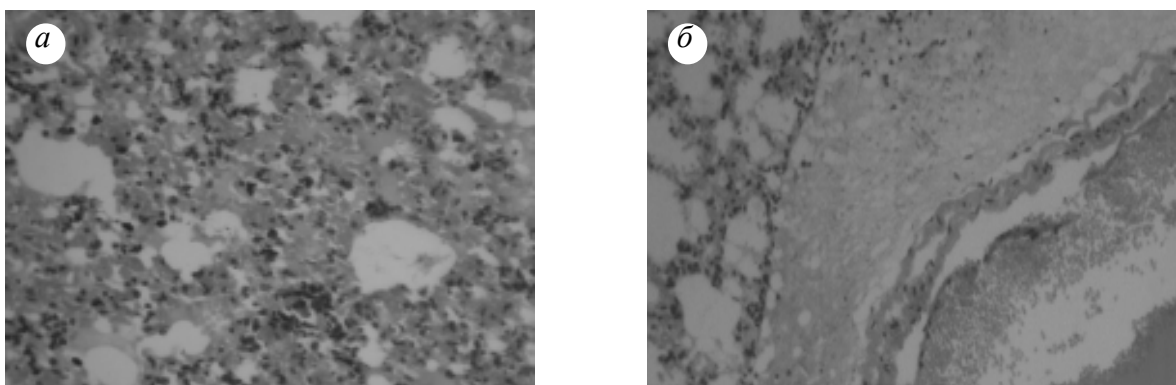


Рис. 5. Респіраторний відділ легеневої тканини щура, якому попередньо до амонію хлориду вводили препарат порівняння Лорноксикам:  
*a* – набрякла рідина зі значною домішкою еритроцитів, порушення рисунка тканини;  
*б* – розширення та просякнення білковою рідиною перивазального простору.  
 Забарвлення гематоксилін-еозином,  $\times 200$

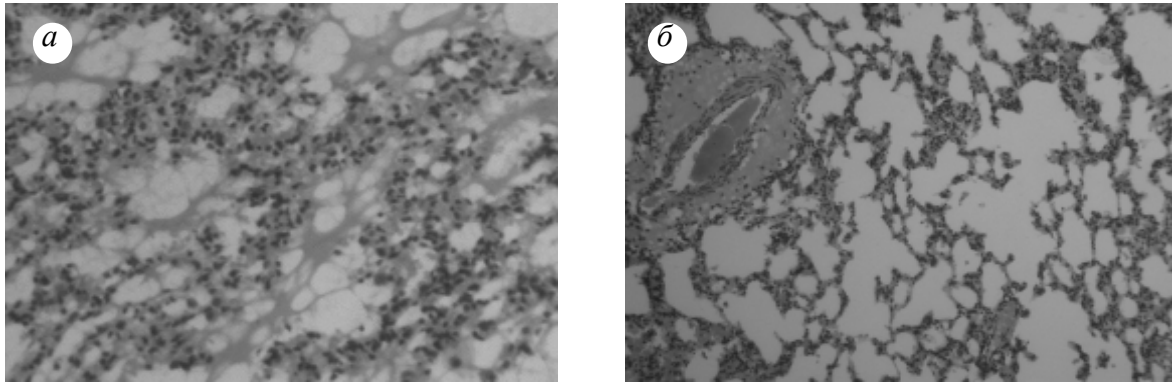


Рис. 6. Респіраторний відділ легеневої тканини щура, якому попередньо до амонію хлориду вводили препарат порівняння Лорноксикам:

*a* – залишки білкової рідини пристінково в альвеолах;  
*б* – певне зменшення набряку перивазального простору.  
 Забарвлення гематоксилін-еозином, x200

брюку щурів групи КП. Альвеоли заповнені білковою рідиною, міжальвеолярні перегородки зруйновані, видно різне за виразністю скупчення клітин крові, рисунок тканини спотворено, перивазальні простори виразно розширені та набряклі (рис. 5, *a, б*). У решти (28,6%) тварин значна частина досліджених ділянок

(рис. 6, *б*). Мозаїчно спостерігали емфіземо-подібно розширені альвеоли. Мережа міжальвеолярних капілярів повнокровна (рис. 6).

Для порівняння виразності протинабрякової дії була проведена напівкількісна оцінка стану легеневої тканини щурів різних експериментальних груп (таблиця).

*Напівкількісна оцінка стану легеневої тканини щурів, бали, Me (LQ;UQ), n=7*

Група щурів	Доза	Ознаки		
		виразність альвеолярного набряку	виразність венозного застою	збереженість альвеолярного рисунку
1-ша (інтактний контроль)	–	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
2-га (контрольна патологія)	Дист. вода, 1 мл/100 г	3 (3; 4)*	3 (3; 4)*	3 (3; 4)*
3-тя (L486-0021)	1 мг/кг	3 (3; 3)*	3 (3; 3)*	3 (3; 3)*
4-та (L486-0021)	10 мг/кг	0 (0; 2)#	0 (0; 2)#	0 (0; 2)#
5-та (лорноксикам)	3,6 мг/кг	3 (2; 3)*#	2 (1; 3)*#	2 (1; 3)*#

Примітка.  $p < 0,05$ ; \* вірогідно щодо інтактного контролю, критерій Манна–Уїтні; # вірогідно щодо групи контрольної патології, критерій Манна–Уїтні.

респіраторного відділу легеневої тканини мала наблизений до звичайного рисунок альвеолярної паренхіми. В той же час спостерігали дрібні ділянки з залишковими ознаками альвеолярного набряку – білкова рідина визначалася у частині альвеол пристінково, міжальвеолярні перегородки доволі чіткі (рис. 6, *a*). Набряк перивазальної тканини зменшено, в деяких випадках мав місце виразний еритродіapedез

Отримані результати свідчать про ефективність речовини L486-0021 у дозі 10 мг/кг при експериментальному набряку легенів.

Таким чином, досліджувана речовина L486-0021 у дозі 10 мг/кг на моделі гострого токсичного набряку легенів у щурів проявляє виразну протинабрякову дію та за виразністю цієї дії перевищує дію препарату порівняння Лорноксикам.

**Литература**

1. *Триняк В. Г.* Особенности развития и течения острого отека легких в условиях гипер- и гипотермии на фоне эфирного наркоза / В. Г. Триняк // Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1986. – № 7. – С. 40–41.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О.В. Стефанов, Н.В. Літвінова, М.А. Філоненко-Патрушева [та ін.]. – К.: Авіценна, 2001. – С. 299.
3. Ammonia (Environmental Health Criteria 54 // Geneva: World Health Organization, 1986. – 210 p.
4. Gibaldi M. Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 4th ed. – Philadelphia: Lea & Febiger, 1991.
5. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший нац. конгрес з біоетики, м. Київ, 2001 // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
6. *Рыболовлев Ю. Р.* Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
7. *Меркулов Г. А.* Курс патолого-гистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отделение, 1969. – 424 с.
8. *Соколовский В. В.* Гистохимические исследования в токсикологии / В. В. Соколовский. – Л.: Медицина, 1971. – 176 с.
9. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2001. – 320 с.

*А.Л. Литвиненко, Ю.Б. Ларьяновская, С.В. Власов*

**ВЛИЯНИЕ ВЕЩЕСТВА L486-0021 НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ТОКСИЧНОМ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ**

Показано, что вещество L486-0021 положительно повлияло на морфологическое состояние легочной паренхимы легких у крыс. Лечебное введение вещества L486-0021 в дозе 10 мг/кг способствовало сохранению альвеолярного рисунка ткани легкого у 57 % животных, не было выявлено участков со значительным выпотом эритроцитов. У 60 % животных, которым вводили вещество L486-0021 в указанной дозе, отмечалось удовлетворительное состояние до окончания эксперимента (2 ч). Антиэкссудативная активность достигала 70,1 %, что превышало активность препарата сравнения Лорноксикам в 1,8 раза.

**Ключевые слова:** острое воспаление, отек легких, крысы, нестероидные противовоспалительные препараты.

*G.L. Litvinenko, J.B. Laryanovska, S.V. Vlasov*

**EFFECT OF COMPOUND L486-0021 ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF LUNG TISSUE DURING THE EXPERIMENTAL ACUTE PULMONARY EDEMA**

The compound L486-0021 showed the significant positive effect on the morphofunctional state of rat's lung parenchyma. Administration of 10 mg/kg dose of the compound L486-0021 had a beneficial effect on the retention of the alveoli structure of the lung tissue for 57 % of the experimental animals, no sites of with appreciable erythrocytes effusion were observed. The state of 60% of animals treated with 10 mg/kg dose of the compound L486-0021 was satisfactory even till the end of experiment (2 hours). The antiexudative effect observed for compound L486-0021 was 70,1 %, which appeared to be 1,8 times higher than the effect of the reference drug Xefocam.

**Key words:** acute inflammation, pulmonary edema, rat's, non-steroidal anti-inflammatory drugs.

*Поступила 28.04.17*