

## Вплив фуросеміду на розвиток алерген-індукованої бронхообструкції у морських свинок

### Дніпропетровська державна медична академія

Вплив фуросеміду на розвиток алерген-індукованої бронхообструкції у морських свинок – Метою дослідження було вивчення бронхопротективного впливу фуросеміду при алерген-індукованій бронхообструкції. Бронхопротективні властивості фуросеміду вивчались на 4 рівних групах активно сенсibilізованих овальбуміном морських свинках в інгаляційному бронхопровокаційному тесті з алергеном (5 % розчин овальбуміну). Тваринам I, II та IV груп попередньо інгаляційно протягом 20 хвилин вводились 0,5 % і 1 % розчини фуросеміду та фізіологічний розчин відповідно. Тварини III групи одержували 1,6 мл 1 % розчину фуросеміду внутрішньом'язово. Бронхопротективні властивості вважались дійсними у випадку вірогідного збільшення часу експозиції алергена порівнянно з групою контролю. Аналіз даних показав, що фуросемід тільки при його інгаляційному введенні здатний дозозалежно запобігати розвитку алерген-індукованої бронхообструкції.

Влияние фуросемида на развитие алерген-индуцированной бронхообструкции у морских свинок – Целью исследования явилось изучение бронхопротективных свойств фуросемида при алерген-индуцированной бронхообструкции. Бронхопротективный эффект фуросемида изучался на 4 равных группах активно сенсibilизированных овальбумином морских свинках в ингаляционном бронхопровокационном тесте с алергеном (5 % раствор овальбумина). Животным I, II и IV групп предварительно ингаляционно на протяжении 20 минут вводились 0,5 %, 1 % растворы фуросемида и физиологический раствор соответственно. Животные III группы получали 1,6 мл 1 % раствора фуросемида внутримышечно. Наличие бронхопротективного эффекта фуросемида считалось в случае достоверного увеличения времени экспозиции алергена в сравнении с группой контроля. Анализ данных показал, что фуросемид только при его ингаляционном введении способен дозозависимо предотвращать развитие алерген-индуцированной бронхообструкции.

The effect of furosemide on allergen-induced bronchoobstruction in guinea pigs – The purpose of this investigation was study bronchoprotective effect of furosemide on allergen-induced bronchoobstruction. This effect was studied on 4 equal groups of ovalbumin-sensitized guinea pigs by bronchoprovocation test with inhaled allergen (5 % solution of ovalbumin). The I, II and IV groups of animals previously were inhaled (during 20 minutes) 0,5 %, 1 % furosemide and physiological solutions accordingly. The animals of III group were reserved intramuscular 1,6 ml 1 % furosemide. The bronchoprotective effect of furosemide was considered in case of authentic increase time of allergen exposition in comparison with control. The data analysis has shown, that only inhaled furosemide is effective for prevent allergen-induced bronchoobstruction and it is dose-dependent.

**Ключові слова:** алерген-індукована бронхообструкція, фуросемід, морські свинки.

**Ключевые слова:** алерген-индуцированная бронхообструкция, фуросемид, морские свинки.

**Key word:** allergen-induced bronchoobstruction, furosemide, guinea pigs.

**Вступ** Значна розповсюдженість алергічних захворювань дихальних шляхів сприяє активному пошуку ефективних та безпечних засобів їх лікування. Обнадійливою в цьому

відношенні є можливість використання блокаторів K-Na-2Cl – котранспортерів, вплив яких на організм хворої людини тільки почав вивчатись. Одним із типових представників цієї групи є фуросемід, більше відомий лікарям як сечогінний препарат, у зв'язку з маловивченістю дії на дихальну систему, ще не зайняв належного місця серед лікувальних засобів антиастматичного призначення [6]. Значну допомогу у цьому можуть надати експериментальні дослідження на тваринах.

Метою даного дослідження було вивчення бронхопротективних властивостей фуросеміду при алерген-індукованій бронхообструкції у морських свинок залежно від доз та шляхів введення.

**Матеріали і методи** Дослідження проводилось на активно сенсibilізованих овальбуміном 24 самцях морських свинок вагою 300-350 г, які знаходились в стандартних умовах віварію Дніпропетровської державної медичної академії (ДДМА).

Згідно з метою дослідження, всі активно сенсibilізовані тварини були розподілені на 4 рівні групи (по 6 тварин в кожній). Першу та другу групи склали морські свинки, яким інгаляційно вводився 0,5 % та 1 % розчини фуросеміду (ФФ “Дарниця”, Київ, Україна) відповідно. Третя група була представлена тваринами, які отримали 1 % розчин фуросеміду (ФФ “Дарниця”, Київ, Україна) внутрішньом’язово. До четвертої групи увійшли тварини, яким інгаляційно вводився фізіологічний розчин (“БИОЛЕК”, м. Харків, Україна).

Для того, щоб експериментальні групи тварин були порівнені між собою, на початку дослідження у всіх морських свинок вимірювались вага, частота дихання (ЧД), частота серцевих скорочень (ЧСС), температура тіла за стандартними методиками [3]. Порівняльна характеристика груп дослідження наведена в таблиці 1.

**Таблиця 1. Порівняльна характеристика груп дослідження**

Групи тварин			
Фуросемід			Контроль
I група (n=6)	II група (n=6)	III група (n=6)	IV група (n=6)
Вага			
325,7±18,6*	325,1±17,8*	326,1±18,2*	325,2±22,6
ЧД			
101,3±5,1*	102,8±2*	99,2±3,6*	100,7±6
ЧСС			
378±17,8*	376±14,3*	376,3±17,2*	371±18,4
Температура тіла			
37,6±0,15*	37,5±0,15*	37,43±0,26*	37,45±0,16

*Технічне обладнання.* В роботі використовувалось стандартне устаткування для інгаляційного введення речовин тваринам, яке складалось з аерозольної камери (характеристика камери наведена в керівництві з біоскринінгу лікарських речовин [1]) та інгалятора ультразвукового розпилу “TuR USI-50” (1мл/2л/1хв/л) виробництва “Hermann Matern” (Німеччина).

*Методика активної сенсibilізації тварин.* Активна сенсibilізація тварин проводилась за методикою, яка запропонована Warner та співавторами [8], з використанням алергізуючої суміші, 1 мл якої містив 20 мг овальбуміну (Sigma GmbH, Munich, Німеччина), дисперсованого в 2 мг рідинного гелю гідроксиду глини (Al(OH)3) низької в’язкості (Sigma GmbH, Munich, Німеччина) та розчиненого в 1 мл фізіологічного розчину (“БИОЛЕК”, м. Харків, Україна), яка виготовлялась “*ex tempore*”.

Згідно з цією методикою, кожній тварині вводилось 0,5 мл алергізуючої суміші підшкірно в потиличну ділянку. На 14 день маніпуляцію повторювали. Наявність сенсibilізації вважалась у випадку виникнення місцевої алергічної реакції у вигляді ясної гіперемії після підшкірного введення 1мл 0,001 % розчину овальбуміну на 21 день.

*Методика проведення бронхопровокаційного тесту з алергеном.* Бронхопровокаційний тест виконувався за методикою, запропонованою для первинного фармакологічного дослідження біологічно активних речовин [2] за наступною схемою. Тварин розташовували в інгаляційній камері та розпочинали інгаляційне введення алергену (5 % розчину овальбуміну). Позитивним вважався тест, коли під час інгалювання розчину подразника тварина падала на бік, що свідчило про розвиток вираженої бронхообструкції.

*Методика проведення дослідження.* На 21 день морських свинок I, II та IV груп розміщували в інгаляційній камері та протягом 20 хвилин інгаляційно вводили 0,5 % (@8мг), 1 % (@16мг) розчин фуросеміду та фізіологічний розчин, відповідно. Тваринам III групи внутрішньом'язово (в ділянку стегна) вводили фуросемід в дозі 16 мг. Через 15 хвилин (час до розвитку дії) після введення препаратів розпочинали бронхопровокаційний тест. Кожній тварині визначався латентний період (ЛП) – час від початку експозиції до появи позитивного результату тесту.

Наявність бронхопротективного ефекту фуросеміду вважалась у випадку вірогідного збільшення тривалості латентного періоду порівняно з контрольною групою. Його ступінь визначався в індексі захисту (ІЗ) для кожної тварини та розраховувався згідно з формулою [2]:

$$IЗ = \left( 1 - \frac{T_1}{T_2} \right) \cdot 100, \text{ де}$$

T<sub>1</sub> – середня тривалість (с) латентного періоду тварин контрольної групи;

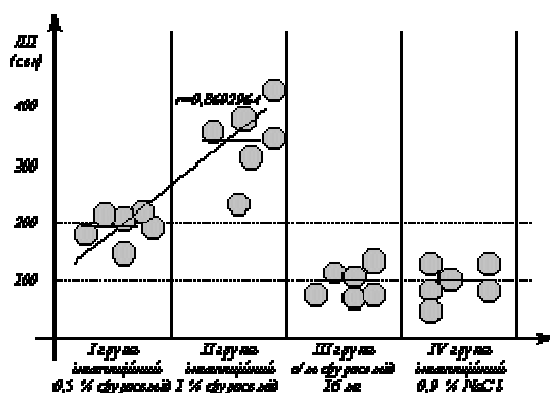
T<sub>2</sub> – тривалість латентного періоду (с) у тварини, що отримала фуросемід.

*Статистична обробка даних* здійснювалась за методом ANOVA з розрахунком середніх та сигмального відхилень, критерію Стюдента гомоскедастичним t-тестом та проведенням кореляційного аналізу за допомогою комп'ютерної програми “Statistica 5.0” (Stat Soft Inc., США). Вірогідною вважалась різниця, якщо показник Р був рівним або меншим ніж 0,05.

**Результати дослідження та їх обговорення** Отримані нами дані показали, що залежно від тривалості ЛП тварин розподілили наступним чином (Мал.1).

Як видно з малюнку, у тварин, які отримали фуросемід внутрішньом'язово, ЛП в середньому складав (100,8±11,1) секунд (85-115 секунд), що не мало статистичної різниці (t=-0,1033; P=0,46) порівнянно з контрольною групою, де цей показник склав (101,2±16,3)

секунд. При інгаляційному введенні 0,5 % та 1 % розчинів фуросеміду спостерігалось вірогідне збільшення тривалості *ЛП* ( $t=5,528$ ;  $P=0,00013$  – для I групи та  $t=9,099$ ;  $P=0,0000018$  – для II групи), де він в се



Мал.1 Тривалість латентного періоду в групах тварин та його взаємозв'язок із інгаляційною дозою фуросеміду.

редньому складав ( $195,8 \pm 16,6$ ) та ( $344,2 \pm 63,1$ ) секунд, відповідно.

Аналіз ступеня захисного впливу показав, що *ІЗ* фуросеміду в групі тварин, які отримали інгаляційно 1 % його розчин, в середньому складав ( $69,5 \pm 6,7$ ), що було приблизно в 1,5 раза більшим ( $t=-6,4723$ ;  $P=0,000036$ ), ніж у тварин, які отримали 0,5 % розчин. В групі морських свинок, яким фуросемід вводився внутрішньом'язово, *ІЗ* був близьким 0 ( $0,16 \pm 9,69$ ).

Результати кореляційного аналізу показали сильний прямий зв'язок ( $r=0,8692964$ ) між інгаляційною дозою фуросеміду та тривалістю латентного періоду (Мал.1).

Проведене нами дослідження дає підставу вважати, що фуросемід тільки при його інгаляційному введенні здатний дозозалежно попереджати миттєву алерген-індуковану бронхоспастичну реакцію у активно сенсibiliзованих овальбуміном морських свинок, тобто має місцевий антиалергічний бронхопротективний потенціал.

Пояснюючи цей ефект фуросеміду, ми виходили з того, що в основі розвитку ранньої алергічної реакції значна роль належить дегрануляції тучних клітин. Проведені дослідження показали, що фуросемід здатний попереджати дегрануляцію тучних клітин [4,7], шляхом стабілізації їх мембран завдяки блокуванню  $K-Na-2Cl$  – котранспортерів [5]. Можливо, що саме такий мембраностабілізуючий вплив фуросеміду на тучні клітини призвів до розвитку бронхопротекції у морських свинок і в нашому дослідженні.

**Висновки 1.** Фуросемід при його інгаляційному введенні здатний запобігати розвитку алерген-індукованої бронхообструкції у активно сенсibiliзованих овальбуміном морських свинок. **2.** Захисний (бронхопротективний) вплив фуросеміду носить дозозалежний характер. **3.** При внутрішньом'язовому використанні фуросемід не демонструє бронхопротективної активності.

1. Биоскрининг: лекарственные вещества // Под ред. А.В. Стефанова – Киев: Авицена, 1998. – 250 с.

2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – Москва: Медицина, 1974. – 143 с.
3. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте. – Киев: Гос. мед. издательство УССР, 1962. – 352 с.
4. Antiallergic potential of furosemide./ Nair A.M., Mungantiwar A.A., Kamal K.M. et al.// *Ind. J. Exper. Biol.* – 1997. – Vol.35. – №5. – P. 466-469 .
5. Effect of frusemide on Cl<sup>-</sup> channel in rat peritoneal mast cells/ Meyer G., Doppiero S., Vallin P. et al.// *Europ. Respir. J.* – 1996. – Vol.9. – №12. – P.2461-2467.
6. Lockhart A., Slutsky A.S. Furosemide and loop diuretics in human asthma/ *Chest.* – 1994. – Vol.106. – №1. – P.244-246.
7. Redrup A.C., Pearce F.L. Effect of loop diuretics on rat peritoneal and human lung mast cells/ *Agents Actions.*- 1994. – Vol.41. – Spec No C47-8.
8. Route of ovalbumin sensitization: Effects on the development of pulmonary inflammation and obstruction in the guinea pig / Warner T. E., Millicchia L.L., Frazer D.G. et al.// *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* –1995. – Vol.151. – P.A394-397.