

**ТОРКУНОВ**

**Павел Анатольевич**

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ  
ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ**

**14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология**

**14.00.16 – патологическая физиология**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук**

**Санкт-Петербург  
2007**



Работа выполнена в Военно-медицинской академии им С М Кирова

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук профессор Шабанов Петр Дмитриевич  
доктор медицинских наук Чепур Сергей Викторович

**Официальные оппоненты:**

академик РАМН доктор медицинских наук профессор  
Юрий Дмитриевич Игнатов  
доктор медицинских наук Олег Дмитриевич Барнаулов  
доктор медицинских наук профессор Виктор Матвеевич Клименко

**Ведущая организация:** ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная  
медицинская академия им И И Мечникова» Росздрава

Защита состоится «13» ноября 2007 г в 13 00 часов на заседании  
диссертационного совета Д 215 002 07 при Военно-медицинской академии  
им С М Кирова (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке академии

Автореферат разослан «\_\_» сентября 2007 г

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук профессор

Богомолов Борис Николаевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Интенсивное развитие химической промышленности сопровождается стремительным увеличением масштабов производства, в качестве промежуточных продуктов которого выступают высокотоксичные вещества (ВТВ) Анализ перечня токсичных веществ, используемых на промышленных объектах Российской Федерации и зарубежных стран, показывает, что наибольшую опасность в мирное время представляют пульмонотоксические удушающие яды, используемые в больших объемах в технологических процессах аммиак, хлор, оксиды азота, азотная и соляная кислоты, фосген и его аналоги [Чучалин А Г , 2007] Следует отметить как тенденцию современной экономики размещение наиболее экологически опасных производств западных компаний на территории РФ Кроме того, в последние годы большую озабоченность вызывает проблема возможного применения ВТВ в террористических целях В связи с этим актуальной задачей токсикологии при химических катастрофах является обеспечение населения медицинскими средствами защиты для оказания экстренной помощи пострадавшим [Куценко С А , 2004] Опыт ликвидации последствий химических аварий свидетельствует, что контингент тяжело отравленных первоначально формируется среди лиц, находящихся в непосредственной близости от эпицентра аварии, где создаются чрезвычайно высокие концентрации токсикантов В таких ситуациях предотвратить гибель может только немедленная (в первые минуты) медицинская помощь [Чиж И М , 2000]. Через несколько часов после аварии удельный вес тяжело пораженных возрастает за счет дальнейшего развития интоксикации у лиц, переживших стадии начальных проявлений и мнимого благополучия Применительно к этой категории пораженных специализированная медицинская помощь должна быть обеспечена в течение 2 ч после контакта с пульмонотоксическими ВТВ

Одним из самых серьезных последствий отравления веществами удушающего действия является развитие токсического отека легких (ТОЛ) – патологического процесса, характеризующегося пропотеванием жидкости в интерстициальное и воздухоносодержащее пространство легких и клинически проявляющегося тяжелой дыхательной недостаточностью Ряд сходных состояний, развивающихся при тяжелых заболеваниях и приводящих к увеличению проницаемости легочных капилляров и интерстициальному отеку легких, определяются как синдром шокового легкого, или респираторный дистресс-синдромом взрослых (РДСВ) [Зильбер А П , 1996, Мотавкин П А , 1998]

ТОЛ является тяжелейшим симптомокомплексом, прогноз которого крайне неблагоприятен летальность пострадавших превышает 60% даже в условиях стационара [Есипова И К , 1979, Зверев М М , 1981] Как правило, лечение отравленных начинается при развитии клинических проявлений поражения, в то время как интерстициальный отек, приводящий к гипоксии, может гистологически определяться уже в первые минуты после контакта с ядом

Специфические противоядия и средства неотложной терапии для предупреждения ТОЛ, развивающегося в результате отравления удушающими ВТВ, до настоящего времени не разработаны. Не намечается ощутимого прогресса и в лечении ТОЛ. Используемая в клинической практике комплексная терапия ТОЛ предусматривает медицинские мероприятия, которые, будучи отнесенными к этапам медицинской эвакуации пострадавших, составляют предмет специализированной медицинской помощи [Новиков Н И, 1993]. Следует констатировать, что до настоящего времени не проводилось систематических исследований, направленных на поиск специфических фармакологических средств защиты, которые могут быть использованы на ранних этапах медицинской эвакуации, в том числе в очаге химического заражения.

Из опыта медицинской службы армий стран НАТО явствует, что для профилактики ТОЛ предусмотрено ранее (не позднее 15 мин после воздействия токсикантов) применение кортикостероидов (дексаметазон и его аналоги) и бронхорасширяющих препаратов (интал) [Келлер А А, 1982]. Указанными средствами в аэрозольных баллончиках укомплектованы индивидуальные аптечки военнослужащих. В Российской армии эти средства не включены в число средств защиты при первичном контакте с химическим оружием.

В соответствии с этим **целью настоящего исследования** явился поиск и экспериментальное исследование фармакологических средств коррекции проявлений токсического отека легких, вызванного фосгеном.

**В задачи исследования** входило

1 Изучить особенности формирования отека легкого при ингаляционном отравлении фосгеном в сравнении с действием других пульмонотоксикантов и обосновать возможность применения данной экспериментальной модели для оценки фармакологических средств защиты от отека легких.

2 Выявить варианты структурных, метаболических и функциональных нарушений организма, способствующих развитию токсического отека легких и определяющих тяжесть его течения при ингаляционном отравлении фосгеном.

3 Разработать принципы патогенетической коррекции токсического отека легких с помощью фармакологических средств и обосновать подходы к поиску средств неотложной терапии отравления пульмонотоксикантами (фосгеном).

4 Обосновать возможность комбинированного использования противодематозных средств различного механизма действия с целью повышения эффективности неотложной (превентивной) терапии токсического отека легких.

**Научная новизна.** Получены оригинальные данные, что интоксикация фосгеном сопровождается развитием токсического отека легких (ТОЛ), который в отличие отравлений адреналином, тиомочевинной, хлористым аммиаком и аммиаком не сопровождается формированием экссудативного плеврита, миокардита, артериальной гипертензии и щелочного ожога верхних дыхательных путей. ТОЛ рассматривается автором с позиции острейшего

асептического воспаления Ведущим патогенетическим звеном ТОЛ является повреждение эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов с повышением их проницаемости и протопеванием жидкости в интерстиций Это повреждение сопровождается активацией тканевых и гранулоцитарных протеиназ и повышением интенсивности свободнорадикальных реакций, обуславливающих нарушение эластического каркаса альвеол и резистивных свойств их стенок Клетки экссудата принимают активное участие в регуляции патологически измененной сосудистой проницаемости и формировании альвеолярного выпота. Указанные изменения приводят к развитию гипоксии и эндогенной интоксикации продуктами распада белков, усиливающие тяжесть проявлений ТОЛ На основе данных о патогенезе ТОЛ определены основные направления ранней патогенетической терапии отравлений пульмоноотоксикантами Проведен систематический скрининг фармакологических средств, корригирующих или предупреждающих гипоксию, гоксемию, активацию свободнорадикальных реакций и ингибирующих NO-синтазу, их особенности действия подтвердили представления о патогенезе интоксикации (изучено около 50 соединений разных фармакологических классов) Наиболее эффективными для фармакологической коррекции ТОЛ рассматриваются серусодержащие антиоксиданты (унитиол, тиосульфат натрия), нестероидные противовоспалительные средства (диклофенак натрия), ингибиторы протеиназ (апротинин) Показана перспективность комбинированного использования противоэдематозных лекарственных средств, влияющих на различные звенья патологического процесса при ТОЛ, в качестве обоснованного подхода к его неотложной терапии Разработана эффективная комбинация противоэдематозных препаратов «тори-26» для лечения ТОЛ Полученные результаты вносят крупный вклад в решение проблемы фармакологической защиты от пульмоноотоксикантов (химического оружия)

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1 У грызунов (мышей) ингаляционное воздействие фосгена независимо от дозы вызывает типичные проявления ТОЛ без выраженных расстройств других органов и систем

2 Развитие ТОЛ представляет собой вариант острейшего асептического воспаления, в развитии которого существенное значение имеют повреждения микрососудов, что определяет развитие его альтеративного и экссудативного компонента Функциональная активность гранулоцитов (тканевые базофилы, нейтрофильные гранулоциты) инфильтрата определяет динамику нарушений реологических свойств крови и формирования расстройств микроциркуляции с депонированием крови в капиллярном и венозном сосудистых звеньях

3 Для неотложной терапии ТОЛ патогенетически обосновано применение антиоксидантов, антигипоксантов, ингибиторов протеиназ и NO-синтазы, а также нестероидных противовоспалительных средств, ингибирующих циклооксигеназу и блокирующих синтез простагландинов

4 Наиболее перспективным подходом к неотложной терапии ТОЛ является комбинированное использование антиоксидантов, ингибиторов протеиназ, ингибиторов синтеза простагландинов

**Практическая значимость работы.** Определены основные классы лекарственных средств, применение которых наиболее перспективно в превентивной и неотложной терапии ТОЛ антиоксиданты, антигипоксанты, противовоспалительные средства, ингибиторы NO-синтазы, ингибиторы протеаз Уточнены оптимальные сроки их использования и определены параметры эффективности Разработаны схемы комбинированного применения противоэдематозных средств различного механизма действия, включающие препараты антиоксидантной (тиосульфат натрия и унитиол), антипротеолитической (апротинин) и противовоспалительной (диклофенак натрия) направленности Доказано, что комбинированное лечение является наиболее перспективным подходом к неотложной терапии ТОЛ Выявленные эффективные лекарственные средства и их комбинации могут быть рекомендованы для участников ликвидации последствий химических аварий и катастроф и явиться основой для совершенствования схемы оказания медицинской помощи пораженным удушающими веществами на этапах медицинской эвакуации

Результаты исследований вошли в «Инструкцию по оказанию неотложной помощи при поражении фосгеном» (Санкт-Петербург, 1998) и «Тактико-технические требования к средствам профилактики и лечения поражений пульмонотоксикантами» (Санкт-Петербург, 2005) По результатам исследований получены патенты РФ на изобретения «2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол, защищающий организм от воздействия гипоксии и токсического отека легкого» № 2188824 от 10 09 2002 г, «7-бром-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол-2-сукцинимид, защищающий организм от гипоксии и обладающий лечебным действием при токсическом отеке легкого» № 2281951 от 20 08 2006 г, «4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол-2-сукцинимид, защищающий организм от гипоксии и обладающий профилактическим действием в отношении токсического отека легкого» № 2281950 от 20 08 2006 г, положительное решение от 14 03 2007 г по заявке на патент РФ № 2004128101 «Гидробромид 2-амино-7-бром-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индола, защищающий печень от отравления четыреххлористым углеродом и от токсического отека легкого при профилактическом приеме»

**Апробация и публикация материалов исследования.** Результаты работы доложены на научно-практической конференции «Медицинские средства защиты от физических, химических и биологических факторов проблемы, достижения и перспективы» (Санкт-Петербург, 1999), VII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2000), Российской научно-практической конференции «Военная медицина на рубеже XXI века. реалии и перспективы» (Москва, 2000), Всесармейской научно-практической конференции «Медицинские последствия экстремальных воздействий на организм» (Санкт-Петербург, 2000), Межотраслевой научно-практической конференции «Медико-биологические аспекты обеспечения обитаемости под-

водных лодок) (Санкт-Петербург, 2002), Научно-практической конференции «Медико-гигиенические аспекты обеспечения работ с особо опасными химическими веществами» (Санкт-Петербург, 2002), 2-ом съезде токсикологов России «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России» (Санкт-Петербург, 2003), научных совещаниях и заседаниях секции научно-технического совета Научно-исследовательского испытательного центра медико-биологической защиты Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины МО РФ (Санкт-Петербург, 2004-2006)

По теме диссертации опубликовано 37 научных работ, в их числе 2 монографии, 11 журнальных статей, 4 патента на изобретение и 20 тезисов

Апробация диссертации прошла на совместном заседании кафедр фармакологии и патологической физиологии Военно-медицинской академии им С М Кирова

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 240 страницах машинописи и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты исследования, их обсуждение, выводы, список цитируемой литературы, приложения. Список литературных источников включает 326 ссылок, из них 231 отечественная и 95 зарубежных авторов. В тексте диссертации содержатся 43 таблицы и 25 рисунков

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 1250 неинбредных мышках-самцах массой 18-24 г и неинбредных крысах-самцах массой 160-240 г, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе питания. Животных умерщвляли путем дислокации спинного мозга или декапитации в зависимости от требований эксперимента

**Модель токсического отека легких.** Моделирование токсического отека легких проводили с помощью ингаляции фосгена. Фосген получали в химической лаборатории путем взаимодействия четыреххлористого углерода с параформом в присутствии хлористого алюминия. Ингаляционное отравление проводили с использованием стендовой установки для моделирования ингаляционных поражений пульмонотоксикантами, разработанной в НИИЦ (МБЗ) ГНИИИВМ МО РФ. Диапазон использованных токсодоз фосгена составлял  $LC_{St16.99}$ . Величину токсодозы определяли длительностью нахождения животных в атмосфере фосгена. Животных умерщвляли через 30 мин, 3 ч и 24 ч после отравления. Выживаемость животных оценивали через 24 ч после отравления

Степень легочного отека определяли путем вычисления легочного коэффициента (ЛК) по формуле

$$\text{ЛК} = \frac{\text{масса легких (г)}}{\text{масса животного (г)}} \times 1000$$

**Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)** проводили по методу Brain and Beck (1979)

**Гематологические методы исследования.** Исследованию подвергали смешанную (артериальную и венозную) кровь, которую получали путем декапитации экспериментальных животных В крови определяли количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, анизоцитоз, количество тромбоцитов, количество скорректированных (истинных) тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, количество микро- и макротромбоцитов, количество лейкоцитов, относительное и абсолютное содержание лимфоцитов, «средних клеток» (эозинофилов, базофилов и моноцитов), гранулоцитов Измерение проводили импедансным методом с использованием анализатора System 9000 (Serono-Baker Diagnostics Inc , США)

Деформируемость эритроцитов определяли по модифицированному методу Tannert и Lux (1989) Вязкость эритроцитов оценивали модифицированным методом Пироговой и Джорджкия (1989)

Длительность кровотечения определяли методом Дьюка [Балуда В П, 1980] в нашей модификации Время свертывания крови определяли унифицированным методом [Балуда В П, 1980]

Адгезию тромбоцитов исследовали методом Смоляницкого (1985) Агрегационную способность тромбоцитов определяли по методу Arkel (1976)

Активированное частичное тромбопластиновое время определяли по времени свертывания крови в условиях стандартизованной контактной и фосфолипидной активации процесса [Балуда В П, 1980] Определение проводили автоматизированным методом с помощью анализатора Thrombotimer 2, Behnk Elektronik (Германия)

Протромбиновое время определяли по методике, описанной В В Медведевым (1995) Определение проводили автоматизированным методом с помощью анализатора Thrombotimer 2, Behnk Elektronik (Германия)

Количество фибриногена оценивали методом Клаусса [Медведев В В, 1995] Определение проводили автоматизированным методом анализа с помощью анализатора Thrombotimer 2, Behnk Elektronik (Германия)

**Морфологические методы исследования.** Для забора морфологического материала животных умерщвляли путем дислокации шейных позвонков, с последующей препаровкой трахеи для исключения заброса крови в трахею и нижележащие воздухоносные пути Легкие исследовали через 30 мин, 3 ч и 24 ч после воздействия пульмонотоксиканта Кусочки ткани фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, обезвоживали по обще-



принятой методике и заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 4-5 микрометров [Меркулов Г А , 1969] Изготовленные срезы легочной ткани окрашивали толуидиновым синим с докраской эозином (для выявления популяции тучных клеток), орсеином (для выявления эластических волокон), по методу Браше (для выявления РНК-содержащих структур), по методу Маллори в модификации для выявления фибрина [Меркулов Г А , 1969]

Содержание лейкоцитов в лаважной жидкости определяли унифицированным методом подсчета в счетной камере [Неменова Ю М , 1972 ] Клеточный состав лаважной жидкости оценивали в мазках, приготовленных из ресуспендированного центрифугата объемом 0,02 мл после отделения надосадочной жидкости Выделяли лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, макрофаги и клетки эпителия

Содержание супероксид-аниона в ткани легких определяли гистохимически с использованием окраски замороженных срезов нитросиним тетразолием (НСТ) [Маянский А Н , 1980]

Содержание нитритов в ткани легких определяли путем окрашивания замороженных срезов реактивом Грисса (2001)

Содержание катионных белков нейтрофилов определяли с помощью лизосомально-катионного теста [Пигаревский В Е , 1987] Тест проводили путем окраски мазков крови прочным зеленым с последующим подсчетом числа гранулоцитов, имеющих разное содержание гранул Внутриклеточное содержание катионных белков определяли путем подсчета среднего цитохимического коэффициента В зависимости от содержания окрашенных гранул клетки делили на три категории А, В и С и рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле

$$\text{СЦК} = 3 \times \text{А} + 2,5 \times \text{В} + 2 \times \text{С} / 100 \text{ клеток}$$

**Биохимические методы исследования.** Содержание общего белка в лаважной жидкости определяли по методу Эрисмана (1997)

Содержание общего белка, альбуминов и глобулинов в плазме определяли с помощью автоматического анализатора BACKMAN SYNCHRON SX-4

Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) оценивали по методу М Я Малаховой с помощью спектрофотометра СФ-26 в диапазоне длин волн от 238 нм до 310 нм с шагом 4 нм [Малахова М Я , 1995] Расчет конечного результата производили путем интегрального измерения площади фигуры, образованной осью абсцисс и полученными значениями экстинкций для каждого типа определения (плазмы и эритроцитов)

$$\text{ВНСММ} = (E_{238} + E_{242} + E_{310}) \times 4, \text{ усл ед}$$

Интенсивность свободно-радикального окисления в плазме оценивали методом индуцированной хемилюминисценции [Арутюнян А В , 2000]

Исследовали газовый состав крови с использованием газоанализатора Synthesis 45 (Instrumentation Laboratory, США) В крови определяли рН, парциальное давление кислорода, парциальное давление углекислого газа, со-

держание общего гемоглобина, оксигемоглобина, карбоксигемоглобина, метгемоглобина, восстановленного (редуцированного) гемоглобина, кислородное насыщение, концентрацию кислорода и кислородную емкость крови, парциальное давление кислорода при 50% ном насыщении крови, содержание общего диоксида углерода, содержание истинного ( $\text{HCO}_3^-$ ) и стандартного бикарбоната, актуальный и стандартный избыток оснований, анионную разницу, содержание лактата, содержание ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  (рН 7,4)

Содержание тиоловых групп определяли спектрофотометрическим методом с реактивом Элмана (раствор 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ) в фосфатном буфере) [Арутюнян А В , 2000] Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли методом конъюгации с тиобарбитуровой кислотой [Арутюнян А В , 2000]

#### **Фармакологические средства, использованные в исследовании.**

Для профилактики и лечения ТОЛ применяли фармакологические средства из разных классов – антиоксидантов, антигипоксантов, ингибиторов NO-синтазы, стероидных и нестероидных противовоспалительных средств, ингибиторов прогеиназ

Для оценки эффективности профилактического действия исследуемые соединения вводили однократно внутрибрюшинно за 30 мин до отравления, для оценки эффективности лечебного действия – однократно через 10-30 мин после отравления фосгеном Комбинации препаратов применяли через 20-40 мин после отравления (лечебное действие), препараты смешивали непосредственно перед введением, суммарный вводимый объем не превышал 0,3 мл на животное

Исследована противозематозная эффективность 49 веществ различной химической структуры Из них 13 являются соединениями, представлявшими различные фармакологические группы, но объединенные общим свойством – антиоксидантной активностью аскорбиновая кислота 100 мг/кг, тиосульфат натрия 500 мг/кг, унитиол 100 и 150 мг/кг,  $\alpha$ -токоферол 30 мг/кг, диметилсульфоксид (ДМСО) 1 мл/кг, этанол 0,2 мл/кг, аллопуринол 10 мг/кг, селенит натрия 0,1 мг/кг, мочева кислота 100 и 300 мг/кг, липоевая кислота 5 и 50 мг/кг, ацетат цинка 25 мг/кг Противовоспалительные средства были представлены дексаметазоном 20 мг/кг, диклофенаком натрия 25 и 50 мг/кг и 5-ацетилсалициловой кислотой (5-АСК) 50 мг/кг В качестве ингибиторов NO-синтазы использовали метиловый эфир L-нитроаргинина (L-NAME),  $\text{N}^G$ -нитро-L-аргинин (L-NNA), 6-нитроиндазол и аминогуанидин, все в дозе 50 мг/кг в сравнении с активатором фермента L-аргинином 50 мг/кг Также применяли ингибитор кальмодулина аминазин 10 мг/кг и ингибитор НАДФН-редуктазы дифенилиодиния йодид (ДФИ-йодид) 0,1-20 мг/кг Ингибиторами протеиназ служили апротинин (контрикал) 250-1000 ЕД/кг, бензилсульфохлорид 50 мг/кг и N-этилмелеинимид 3 мг/кг Из соединений, блокирующих фосфолипазу  $\text{A}_2$ , применяли  $\alpha$ , $\beta$ -дибромацетофенон 3 мг/кг и  $\alpha$ -бромацетофенон 3 мг/кг

В рамках поиска и изучения новых перспективных для профилактики и лечения токсического отека легких препаратов исследовали эффективность ряда из 21 соединения, синтезированного на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии В В Марышевой (рис 1 и 2)

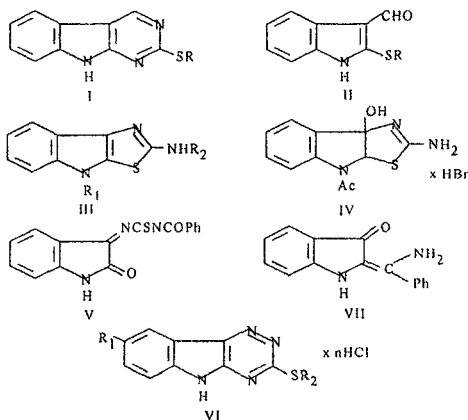


Рис 1 Структурные формулы соединений I-VII

I R = CH<sub>3</sub> (а), R = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (б), R = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (в) II R = CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub> (а), R = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (б), R = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> (в), R = CH<sub>2</sub>CON(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (г) III R<sub>1</sub> = COCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H (а), R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = COCH<sub>3</sub> (б) VI R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, n=1 (а), R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = 2-морфолиноэтил, n=2 (б), R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = 2-морфолиноэтил, n=2, гидрат, (в)

Исследованные соединения представляют производные пиримидоиндола (соединения структуры I), формилиндола (соединения структуры II), тиазолиндола (соединения структуры III и IV), N-(3-индолил)гиомочевины (соединение структуры V), триазиноиндола (соединения структуры VI) и 2-арилметил-3-индолинона (соединение структуры VII)

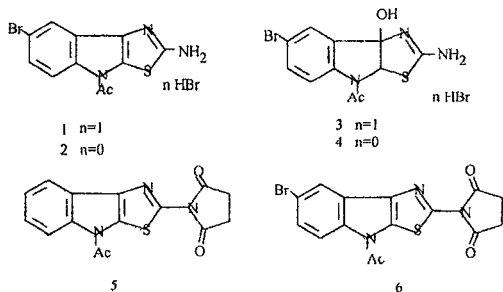


Рис 2 Структурные формулы соединений тиазоло[5,4-b]индола

**Статистическая обработка результатов.** Каждая группа животных включала 8-12 особей. Статистическую обработку результатов исследования проводили методами вариационной статистики с помощью стандартного пакета программ STATISTICA® (версия 5) и Microsoft Excel 97®. Для статистической обработки полученных данных, представленных в виде  $M \pm m$ , использовали *t*-критерий Стьюдента [Беленький М Л, 1959]. Обработка результатов, представленных в относительных единицах, осуществлялась с использованием таблиц Генеса, основанных на точном методе Фишера для четырехпольной таблицы [Гублер Е В, 1965]. Достоверность полученных результатов соответствует уровню значимости при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выбор экспериментальной модели токсического отека легких (ТОЛ) в наших экспериментах определялся необходимостью моделирования выраженного альвеолярного токсического отека легких с минимальными патологическими изменениями других органов и систем. В качестве токсикантов, вызывающих ТОЛ, использовали хлорид аммония, тиомочевину, аммиак и фосген.

Предварительные эксперименты показали, что наиболее полно предъявляемым требованиям удовлетворяет отравление мышей и крыс фосгеном. Модель токсического отека легких, вызванного ингаляцией экспериментальным животным фосгена в токсодозах 4,0-4,8 мг×мин/л, позволяет исследовать токсический отек легкого у различных видов животных (грызунов) как на ранних этапах формирования отека легких, так и на стадии развернутого отека. Отравление мышей и крыс фосгеном сопровождается развитием альвеолярного токсического отека легких, причем выраженность и динамика такого отека у обоих видов грызунов одинакова.

### Патофизиологическая и патоморфологическая характеристика токсического отека легких, вызванного фосгеном (обоснование выбора модели)

**Патофизиологические изменения в легких.** Характер изменения легочного коэффициента (ЛК) у мышей при их отравлении токсикантом в токсодозе  $LC_{50}$  показан на рис. 3. Установлено, что величина ЛК в течение всего срока наблюдения (24 ч) постепенно увеличивалась и уже к 3 ч достигала уровня 16,0 отн ед при норме 7,5-8,2 отн ед. К 24 ч значение ЛК продолжало нарастать и достигало 20,0-22,0 отн ед. Полученные данные свидетельствуют о формировании у отравленных мышей отека легких в течение первых суток после отравления фосгеном в использованных токсодозах.

Таким образом, изучение картины интоксикации через 3 ч и 24 ч после воздействия токсиканта достаточно полно отражает картину отравления и

позволяет оценивать как самую раннюю, так и финальную стадию отравления.

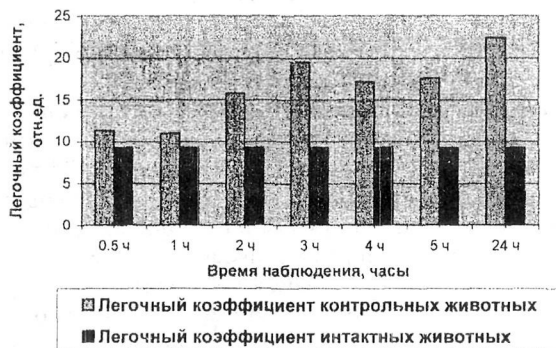


Рис. 3. Динамика ЛК мышей после отравления фосгеном в токсодозе LC<sub>50</sub> (4,0 мг×мин/л)

**Структурные изменения в легких.** Данные морфологического исследования показали, что отравление фосгеном вызывало серьезные поражения практически всех структурных компонентов легких, которые хорошо визуализировались уже через 30 мин после воздействия и имели множественный локальный характер в легочной паренхиме.

Нарушения микроциркуляции в легких с депонированием крови в капиллярном и венозном звене, с изменением ее реологических свойств и тонуса сосудов прогрессировали в течение суток наблюдения. К 3-м часам после воздействия эти нарушения сопровождались выраженной воспалительной реакцией с привлечением полиморфноядерных лейкоцитов и, особенно, моноцитарно-макрофагальных клеток. Это приводило к развитию множественных фокусов отека: отека интерстиция альвеолярных перегородок, альвеолярного отека, отека интерстиция рыхлой соединительной ткани сосудисто-бронхиальных путей.

Прогрессирование развития эмфиземы легких было связано с тотальным растяжением эластических волокон и с усиливающейся обструкцией просветов ветвей бронхиального дерева слушными эпителиальными клетками, экссудатом и эритроцитарными массами.

Через 3 ч после отравления наблюдалось заполнение части альвеол диапедезными эритроцитами и отложение их пристеночно на альвеолярных поверхностях вместе с экссудатом. Усиливалась редукция капилляров, и увеличивались зоны невосстановленного кровообращения. Все это существенно затрудняло газообмен в легких и увеличивало объем альвеолярного мертвого пространства.

Таким образом, отравление мышей фосгеном приводило к серьезным патоморфологическим изменениям практически всех структурных компонентов легких. Развитие патологического процесса сопровождалось нарушением реологических свойств крови и микроциркуляции в легких с депонированием крови в капиллярном и венозном сосудистом звене, нарушениям проходимости дыхательных путей, прогрессирующим развитием эмфиземы, интерстициального и альвеолярного отека легких.

**Изменение содержания форменных элементов крови и их популяций при ТОЛ, вызванном фосгеном у мышей.** Эксперименты позволили установить (табл. 1), что в динамике токсического отека легких, вызванного фосгеном у мышей, основные изменения наблюдались в содержании лейкоцитов, составе лейкоцитарной формулы и содержании тромбоцитов. Первой реакцией на отравление со стороны лейкоцитов (30 мин) являлось кратковременное увеличение их общего числа (лейкоцитоз). В фазу выраженных клинических проявлений токсического отека легких (3 ч) отмечалось изменение лейкоцитарной формулы в сторону увеличения доли гранулоцитов и «средних» клеток (гранулоцитоз и эозинофилия-моноцитоз). Через сутки после инициации токсического отека легких у выживших животных описанные изменения показателей в основном возвращались к исходному уровню. Увеличение общего числа тромбоцитов (тромбоцитоз) имело место на протяжении всего срока наблюдения.

Таблица 1

Содержание лейкоцитов и тромбоцитов в крови мышей, отравленных фосгеном в токсодозе LC<sub>50</sub>

Группа животных, время после отравления	Параметры, единицы измерения					
	WBC, тыс /мл	Lymph, %	Gran, %	Mid, тыс /мл	Gran, тыс /мл	PLT, тыс /мл
Интактные	8,2±1,4	66,0±7,3	11,3±1,3	1,8±0,2	0,9±0,1	534,0±100,5
Отравленные фосгеном, 30мин	5,7±0,6*	63,9±2,2	17,5±1,2*	1,1±0,1*	1,0±0,2	625,0±246,1
Отравленные фосгеном, 3 ч	8,8±2,9	51,7±2,5*	18,4±0,9*	2,7±0,6*	1,6±0,5*	744,0±43,0*
Интактные	6,3±1,1	64,4±0,5	15,4±0,6	1,3±0,2	1,0±0,2	692,0±14,4
Отравленные фосгеном, 24 ч	5,9±0,3	59,6±4,6	19,1±2,1*	1,2±0,1	1,1±0,2	826,3±63,0*

Примечание \* p ≤ 0,05 в сравнении с группой интактных животных. WBC – лейкоциты, Lymph – лимфоциты, Gran – гранулоциты, Mid – «средние» клетки, PLT – тромбоциты

Изучение содержания катионных белков нейтрофилов мышей позволило установить, что уже через 5 мин после отравления происходит дегрануляция нейтрофилов, что находит отражение в снижении среднего цитохимического коэффициента (табл 2)

Таблица 2

Изучение содержания катионных белков нейтрофилов мышей через 5 мин после отравления фосгеном

Группа животных, время после отравления	Средний цитохимический коэффициент, Ед
Интактные	2,8±0,1
Отравленные фосгеном, 5 мин	1,8±0,1 *
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с интактными животными	

Таким образом, на самой ранней стадии отравления фосгеном происходит активация и дегрануляция гранулоцитов в легких

Полученные данные подтверждают участие клеток крови в каскаде патологических процессов, запускаемых фосгеном Гранулоцитарный сдвиг лейкоцитарной формулы позволяет предположить воспалительный характер патологического процесса Все это указывает на важную роль факторов крови в развитии токсического отека легких

**Изменение газотранспортной функции крови мышей при отравлении фосгеном.** Изучение кислородного статуса организма показало (табл 3), что на этапе выраженных клинических проявлений отека легких (через 3 ч) обнаруживали снижение рН, содержания оксигемоглобина и кислородного насыщения крови, повышение парциального давления углекислого газа, то есть признаки дыхательной недостаточности и (компенсированного) респираторного ацидоза

Таблица 3

Газовый состав крови мышей, отравленных фосгеном, в токсодозе  $LC_{50}$

Группа животных, время после отравления	Параметры, единицы измерения			
	рН	$pCO_2$ , мм рт ст	$O_2Hb$ , %	$sO_2m$ , %
Интактные	7,366 ±0,024	32,2 ±6,2	72,5 ±4,8	77,3 ±5,7
Отравленные фосгеном, 3 ч	7,272 ±0,068 *	42,0 ±3,9 *	56,6 ±9,5 *	60,6 ±7,4 *
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с группой интактных животных $pCO_2$ – парциальное давление углекислого газа, $O_2Hb$ – содержание оксигемоглобина, $sO_2m$ – кислородное насыщение крови				

**Изменение кислотно-основного и электролитного состава крови при ТОЛ, вызванном фосгеном у мышей.** Установлено, что через 30 мин и 3 ч после инициации токсического отека легких ни один из исследованных показателей кислотно-основного состояния не изменялся. Существенные изменения показатели кислотно-основного состояния претерпевали через 24 ч наблюдения. В крови животных на фоне нормализации рН происходило повышение содержания истинного бикарбоната, стандартного бикарбоната и общего диоксида углерода. Изменялись показатели актуального избытка оснований и стандартного избытка оснований, что свидетельствовало об уменьшении недостатка оснований в крови. Исследование содержания электролитов на все сроки наблюдения показало отсутствие каких-либо изменений во всех экспериментальных группах.

**Изменение содержания и состава белка в крови и лаважной жидкости при ТОЛ, вызванном фосгеном у мышей.** Эксперименты показали, что к 3 ч эксперимента содержание общего белка, альбумина, глобулина и альбумино-глобулиновое соотношение в плазме отравленных животных не отличались от таковых у интактных животных и оставались неизменными на протяжении всех сроков наблюдения (табл. 4). К 24 ч наблюдения содержание белка во всех исследованных группах повышалось по сравнению с интактными животными. При этом в группе отравленных мышей снижалось содержание альбуминов и повышалось количество глобулинов, в результате чего изменялся (снижался) альбумино-глобулиновый коэффициент.

Концентрация белка в лаважной жидкости через 3 ч после отравления фосгеном увеличивалась более чем в 10 раз ( $7,9 \pm 1,1$  г/л), а через 1 сут превышало уровень у интактных животных уже в 25 раз ( $17,2 \pm 2,1$  г/л, у интактных животных  $0,7 \pm 0,1$  г/л).

Таблица 4

Содержание белка в лаважной жидкости мышей, отравленных фосгеном в токсодозе  $LC_{50}$

Группа животных, время после отравления	Содержание белка в лаважной жидкости, г/л
Интактные	$0,7 \pm 0,1$
Отравленные фосгеном, 30 мин	$0,72 \pm 0,12$
Отравленные фосгеном, 3 ч	$7,9 \pm 1,1$ *
Отравленные фосгеном, 24 ч	$17,2 \pm 2,1$ *
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с группой интактных животных	

Полученные результаты дают основание заключить о значительном повышении проницаемости азотгематического барьера для белка у животных, отравленных фосгеном.



Таким образом, проведенные эксперименты позволили обнаружить у отравленных фосгеном животных изменения некоторых показателей гомеостаза. В крови имело место увеличение общего числа тромбоцитов и изменение лейкоцитарной формулы в сторону увеличения доли гранулоцитов и «средних» клеток (эозинофилов и моноцитов). Изучение кислородного статуса выявило признаки дыхательной недостаточности и респираторного ацидоза (компенсированного). Изменения кислотно-основного состояния у нелеченных животных выражались снижением pH и практически всех исследованных показателей и были направлены к уменьшению дефицита оснований (преобладанию щелочных резервов крови). Получено подтверждение значительного повышения проницаемости аэрогематического барьера для белка у животных, отравленных фосгеном.

Обнаруженные изменения гомеостаза сопровождают развитие ТОЛ и отягощают клиническую картину отравления фосгеном. Они в свою очередь являются результатом протекания некоторых ведущих патогенетических механизмов, которыми при токсическом отеке легких могут являться воспаление с активизацией свободнорадикального механизма повреждения и NO-зависимых реакций, нарушение микроциркуляции и системы гемостаза.

### Исследование патогенетических механизмов токсического отека легких

**Общая антиоксидантная активность крови.** Через 3 ч после отравления фосгеном установлено увеличение коэффициента S/S<sub>t</sub>, характеризующего степень активности антиоксидантной системы крови (табл 5)

Таблица 5

Исследование общей антиоксидантной активности сыворотки крови мышей (M ± m, n=12) после отравления фосгеном (LCt<sub>16</sub>)

Группа животных, время после отравления	J max, МВ	tg1, МВ/с	tg2, МВ/с	S/St, отн ед
Интактные	8,3 ± 0,79	16,25 ± 1,75	-3,44 ± 0,39	6,55 ± 0,12
Отравленные фосгеном, 3 ч	7,48 ± 0,66	14,9 ± 1,35	-3,06 ± 0,29	7,22 ± 0,13*
Отравленные фосгеном, 24 ч	7,82 ± 0,20	15,61 ± 0,36	-3,46 ± 0,15	6,77 ± 0,14

Примечание \*p ≤ 0,05 в сравнении с группой интактных животных, J max – значение максимальной интенсивности сигнала, S – светосумма, St max – светосумма до момента достижения максимальной интенсивности, tg1 – тангенс угла максимального нарастания сигнала до достижения значения максимальной интенсивности, tg2 – тангенс угла максимального убывания сигнала после достижения значения максимальной интенсивности.

Следовательно, изучение общей антиоксидантной активности крови позволило обнаружить у отравленных фосгеном животных снижение антиоксидантного резерва крови.

**Содержание тиоловых групп и малонового диальдегида в крови и лаважной жидкости.** Установлено, что в крови отравленных животных через 24 ч уровень МДА у отравленных животных достоверно снижался (табл. 6) Содержание SH-групп в крови отравленных животных повышалось к 3 ч и возвращалось к уровню интактных животных к 24 ч эксперимента. Содержание SS-групп крови у отравленных животных повышалось через 3 ч наблюдения относительно уровня интактных животных, затем нормализовывалось к 24 ч эксперимента, поворяя динамику SH-групп

Таблица 6

Содержание МДА, SS- и SH-групп в крови мышей, отравленных фосгеном в токсодозе  $LC_{16}$

Группа животных, время после отравления	Показатели			
	МДА, нмоль/мл	SH-группы ммоль/мл	SS-группы ммоль/мл	SS/SH, отн ед
Интактные	11,17±1,23	0,07±0,002	0,11±0,04	1,53±0,58
Отравленные фосгеном, 3 ч	8,45±1,24	0,12±0,02*	0,30±0,04*	2,31±0,52
Отравленные фосгеном, 24 ч	7,26±0,75*	0,07±0,03	0,12±0,02	1,74±0,7
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с интактными животными				

Обнаруженные закономерности содержания и динамики белковых SH- и SS-групп в крови отравленных животных могут свидетельствовать как о первичных биохимических изменениях в легочной ткани (повреждение мембранных белков легких вследствие контакта с отравляющим агентом), так и о характере обмена белка между легкими и кровью

Можно предположить также, что поскольку фосген относится к алкилирующим агентам, способным связываться с SH,  $NH_2$  и  $COO^-$ -группами, то в связи с этим поражение легких является следствием прямого повреждения отравляющим веществом клеточных структур аэрогематического барьера

**Активность NO-синтазы в ткани легких.** Установлено, что отравление животных фосгеном способствовало повышению концентрации нитритов до  $0,66 \pm 0,018$  ед опт плотн ( $p \leq 0,05$ ) через 3 ч эксперимента и нормализации их содержания к 24 ч наблюдения ( $0,62 \pm 0,002$  ед опт. плотн, у интактных животных –  $0,63 \pm 0,015$  ед опт. плотн) Полученные данные (табл 7) указывают на увеличение содержания нитритов в легочной ткани, что можно объяснить повышением активности NO-синтазы в острой стадии отравления фосгеном

Таблица 7

Содержание нитритов в ткани легких мышей, отравленных фосгеном (LСt<sub>16</sub>)

Группа животных	Содержание нитритов (ед опт плотн ) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	0,630 ± 0,015	
Отравленные фосгеном	0,660 ± 0,018*	0,640 ± 0,009
Примечание *p≤0,05 в сравнении с интактными животными		

**Деформируемость и вязкость эритроцитов.** Эксперименты показали, что в динамике токсического отека легких, вызванного фосгеном у мышей, общее содержание эритроцитов и их физические характеристики не изменялись. Однако, исследование деформируемости и вязкостного показателя эритроцитов позволило установить, что эритроциты мышей, отравленных фосгеном, имели индекс деформируемости достоверно ниже, а коэффициент относительной вязкости достоверно выше, чем соответствующие показатели интактных животных (табл 8)

Таблица 8

Деформируемость и вязкостный показатель эритроцитов мышей через 3 ч после отравления фосгеном

Группа животных	Индекс деформируемости, усл ед	Кoeffициент вязкости, усл ед
Интактные	3,30±0,01	1,50±0,04
Отравленные фосгеном	2,37±0,16 *	1,65±0,05 *
Примечание * p≤ 0,05 в сравнении интактными животными		

Таким образом, ослабление деформируемости и увеличение вязкостного показателя эритроцитов отравленных животных приводило к повышению вязкости крови и увеличению предела ее текучести

**Система гемостаза.** Оценивали тромбоцитарно-сосудистый и коагуляционный гемостаз в динамике ТОЛ (табл 9) Установлено, что через 30 мин после отравления снижались длительность кровотечения, время свертывания крови и агрегации тромбоцитов. На 3 ч в контрольной группе происходило дальнейшее снижение величин длительности кровотечения, времени свертывания крови, времени агрегации тромбоцитов, индекс их адгезии незначительно превышал уровень интактных животных. К 24 ч развития ТОЛ длительность кровотечения, время свертывания крови, индекс адгезии и время агрегации тромбоцитов у животных контрольной группы продолжали снижаться

Таблица 9

Показатели гемостаза у мышей, отравленных фосгеном в дозе LC<sub>70</sub>

Группа животных, время после отравления	ДК, Мин	ВСК, Мин	Адгезия, %	Агрегация, Мин
Интактные	5,13±0,15	1,35±0,20	39,7±3,9	3,8±0,4
Отравленные фосгеном, 5 мин	-	-	-	1,5±0,3 *
Отравленные фосгеном, 30 мин	3,1±0,4 *	0,4±0,2 *	-	3,0±0,2
Отравленные фосгеном, 3 ч	0,5±0,2 *	0,5±0,1 *	45,3±2,7	2,2±0,3 *
Отравленные фосгеном, 24 ч	0,2±0,1 *	0,6±0,1 *	22,3±3,6 *	0,5±0,1 *
Примечание ДК – длительность кровотечения, ВСК – время свертывания крови, *p≤0,05 по сравнению с интактными животными				

Таблица 10

Содержание фибриногена в крови мышей, отравленных фосгеном в токсодозе LC<sub>16-50</sub>

Группа животных, время после отравления	Фибриноген, г/л
Интактные	1,81±0,20
Отравленные фосгеном, 3 ч	2,45±0,28*
Отравленные фосгеном, 24 ч	2,98±0,61*
Примечание *p≤0,05 по сравнению с интактными животными	

В плазме отравленных животных было обнаружено увеличение содержания фибриногена (табл 10) Фибриноген относится к «острофазовым» белкам, содержание которых увеличивается во время воспаления. Следовательно, увеличение содержание фибриногена в плазме контрольных животных во все сроки исследования может указывать на воспалительную реакцию.

Таким образом, отравление фосгеном приводило к активации тромбоцитарно-сосудистого механизма гемостаза с повышением адгезионной и агрегационной способности тромбоцитов. Через 30 мин активировался и коагуляционный механизм гемостаза.

**Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в крови и лаважной жидкости.** Установлено, что при отравлении фосгеном в плазме и эритроцитах крови отравленных животных через 3 и 24 ч после от-

равления появляются маркеры эндогенной интоксикации (ВНСММ) (рис. 4, 5).

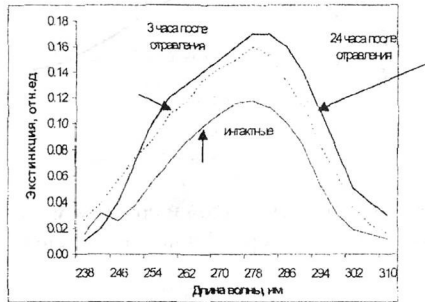


Рис. 4. Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в плазме мышц после отравления фосгеном ( $LCt_{84}$ )

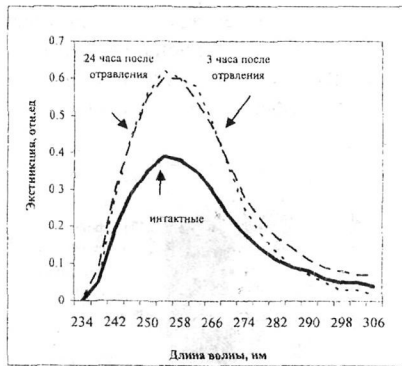


Рис. 5. Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в эритроцитах мышц после отравления фосгеном ( $LCt_{84}$ )

Аналогичную картину обнаружили в лаважной жидкости. Из рис. 6 видно, что содержание ВНСММ в лаважной жидкости отравленных животных через 3 ч после отравления достоверно превышает их уровень у интактных животных.

Полученные результаты позволяют говорить о появлении в лаважной жидкости в результате отравления фосгеном продуктов катаболизма, свидетельствующих об эндогенной интоксикации.



Рис. 6. Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы в лаважной жидкости мышей через 3 ч послеотравления фосгеном ( $LC_{t84}$ )

**Клеточный состав лаважной жидкости.** Исследование количественного состава и состояния клеток лаважной жидкости показало (рис. 7), что ингаляционное воздействие фосгеном уже через 30 мин приводит к резкому увеличению в воздухоносных путях пораженных легких числа всех клеточных элементов. Через 3 ч после воздействия в период выраженного развития воспалительного процесса и усиления воспалительной инфильтрации отмечалось снижение числа вымываемых из воздухоносных путей клеток, прежде всего малых лимфоцитов, макрофагов, эпителиоцитов.

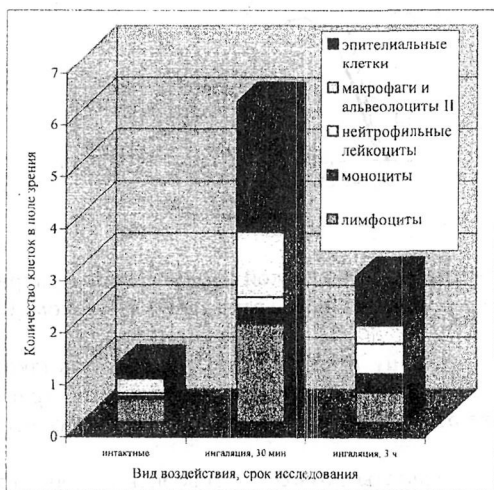


Рис. 7. Частота встречаемости клеток разных клеточных популяций в поле зрения мазка лаважной жидкости

Отражением усиления в легких воспалительного процесса явилось появление к этому сроку в лаважной жидкости функционирующих клеток воспалительного инфильтрата, а также увеличение доли нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов – предшественников макрофагов

Следовательно, обнаруженные закономерности сходны с теми же структурными изменениями в клеточных компонентах аэрогематического барьера, которые были выявлены в легких при микроскопическом исследовании. Обнаруженные изменения клеточного состава лаважной жидкости отражают возникновение в легочной ткани отравленных фосгеном животных воспалительного процесса

Проведенные исследования позволили получить данные о некоторых механизмах формирования ТОЛ. Так, у животных, отравленных фосгеном, обнаружено снижение антиоксидантного резерва крови, снижение содержания МДА и повышение содержания SH-групп и SS-групп в ранние стадии отравления. На основании полученных данных можно сделать заключение об активизации свободнорадикальных реакций, особенно на ранних этапах формирования ТОЛ. Отравление животных фосгеном способствовало повышению концентрации нитритов в легких на ранних стадиях поражения, что является одним из признаков возникновения воспаления. Были установлены ослабление деформируемости и увеличение вязкостного показателя эритроцитов отравленных животных, что приводило к повышению вязкости крови и увеличению предела текучести. Отравление фосгеном сопровождалось активацией коагуляционного и тромбоцитарно-сосудистого механизмов гемостаза с повышением адгезионной и агрегационной способности тромбоцитов. Одновременно с активацией системы гемостаза наблюдались активация и дегрануляция гранулоцитов в легких. Обнаружено увеличение содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в лаважной жидкости отравленных животных. Полученные результаты позволяют говорить о появлении в крови и лаважной жидкости в результате отравления фосгеном продуктов катаболизма, свидетельствующих об эндогенной интоксикации.

Таким образом, исследование некоторых патогенетических механизмов токсического отека легких при отравлении фосгеном указывает на активизацию NO-зависимого и свободнорадикального механизмов повреждения легочной ткани, возникновение воспаления, эндогенной интоксикации и гипоксии. Можно предположить, что, снижая активность NO и свободнорадикальных процессов в легких, уменьшая выраженность воспаления, снижая тяжесть интоксикации и гипоксии, можно облегчить течение и прогноз при токсическом отеке легких.

### **Изучение эффективности средств профилактики и лечения экспериментального токсического отека легких**

**Эффективность профилактического применения конденсированных производных индола.** Изучение противоэдематозной активности тестируемых препаратов показало следующее (табл. 11)

Таблица 11

Влияние конденсированных индолов на показатели ЛК и выживаемость мышей, отравленных фосгеном в токсодозе  $LC_{t_{84}}$

Группа животных, вводимый препарат, доза мг/кг	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения		Выживаемость, %
	3 ч	24 ч	
Интактные	8,2 ± 0,5		-
Отравление фосгеном, 4,8 мг×мин/л	11,0 ± 0,8	20,4 ± 1,1	20
I б, 25 мг/кг	9,0 ± 1,1	15,8 ± 1,2*	80
II б, 25 мг/кг	10,0 ± 0,9	12,8 ± 1,5*	80
II в, 25 мг/кг	9,9 ± 0,8	16,2 ± 1,1*	80
III а, 25 мг/кг	11,5 ± 0,9	12,7 ± 1,1*	100 **
III б, 25 мг/кг	9,2 ± 0,5	16,4 ± 0,7*	40
V, 25 мг/кг	10,1 ± 1,2	15,6 ± 1,4*	40
VII, 25 мг/кг	7,3 ± 0,7 *	18,6 ± 0,6	20

Примечание \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,025$  в сравнении с контрольными животным, н/о – определение показателя не проводилось Соединения структуры I – производные пиримидоиндола, соединения структуры II – производные формилиндола, соединения структуры III – производные тиазолоиндола, соединение структуры V – производные N-(3-индолил)тиомочевины, соединение структуры VII – производное 2-арилметилена-3-индолинона (см рис 1)

Полученные результаты позволяют заключить, что из исследованной группы соединений препараты Iб, IIб, IIв, IIIа, IIIб, V и VII позволяют в значительной степени уменьшить выраженность токсического отека легких, вызванного фосгеном. Однако наиболее эффективным в наших исследованиях являлся препарат IIIа. Его применение позволяет предотвратить как формирование токсического отека легких, так и смертность отравленных животных.

Таким образом, конденсированные производные индола обладают выраженной противоэдематозной активностью. Наибольшая фармакологическая активность выявлена у тиазолоиндола IIIа.

**Профилактическая и лечебная эффективность производных тиазола[4,5-б]индола.** Следующим этапом исследований являлось исследование профилактической и лечебной эффективности соединений, синтезированных на основе вещества IIIа (тиазоло[4,5-б]индола), проявившего наибольшую профилактическую эффективность. К числу таковых относится 6 соединения, отличающихся друг от друга характером и местом присоединения радикала (см рис 2).



Полученные результаты позволяют заключить, что из исследованной группы соединений наиболее выраженным профилактическим действием обладает соединение №3 (табл 12) Его использование позволяет уменьшить выраженность отека легких. Наиболее выраженным лечебным действием обладает соединение №6. Использование этого соединения позволяет уменьшить выраженность отека легких на начальной стадии развития патологического процесса.

Таблица 12

Эффективность профилактического и лечебного применения производных тиазоло[4,5-*b*]индола при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном в дозе 4,0 мг×мин/л

Группа животных, вводимое вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед ) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	7,2 ± 0,5	
Отравление фосгеном 4,0 мг×мин/л	10,2±0,2	19,7±0,8
Соединение №3 25 мг/кг, профилактика	9,2±0,3*	13,3±0,3*
Отравление фосгеном 4,0 мг×мин/л	12,3±1,7	19,4±1,5
Препарат №6 25 мг/кг, лечение	8,0±0,7*	16,7±1,5
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными, препараты №3 и №6 – производные тиазоло-4-5- <i>b</i> -индола (см рис 2)		

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что новые конденсированные производные индола с антигипоксической активностью Iб, IIб, IIв, IIIа, IIIб и V и VII при профилактическом применении обладают противоэдематозной активностью. Наибольшая профилактическая эффективность выявлена у соединения IIIа (тиазоло[4,5-*b*]индола). Из числа изученных новых производных тиазолоиндола профилактическим противоэдематозным действием обладают соединения №3 и №4 (бромтиазоло[4,5-*b*]индола гидробромид и бромтиазоло[4,5-*b*]индол), лечебным действием – соединения №6 (бромтиазоло[4,5-*b*]индола сукцинимид).

**Профилактика и лечение токсического отека легких ингибиторами NO-синтазы.** Цель данного раздела исследований состояла в изучении эффективности различных путей ингибирования NO-синтазы конкурентного ингибирования фермента эфирами L-аргинина и ингибирование НАДФН-редуктазного домена NOS дифенилиодинием.

**Эффективность солей дифенилиодиния.** Предварительное введение дифенилиодиния иодида (ДФИ-иодида) в значительной мере предотвращает развитие легочного отека на протяжении всего эксперимента. На ранних сроках эксперимента (до 3 ч) данный эффект выражен наиболее ярко. После од-

нократного введения ДФИ-иодида в течение 24 ч ЛК у животных опытной группы был достоверно ниже, чем в контрольной (табл 13) Летальность среди животных опытной группы была также ниже, чем в контроле

Таблица 13

Профилактическая эффективность ДФИ-иодида при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном

Вводимое вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения		Выживаемость, %
	3 ч	24 ч	
Интактные мыши	6,2 ± 0,2	6,6 ± 0,5	-
Отравление фосгеном, 4,8 мг×мин/л	11,9 ± 0,6	26,9 ± 1,2	10
ДФИ-иодид 10 мг/кг	12,7 ± 0,6	15,3 ± 1,4 *	80 *
ДФИ-иодид 20 мг/кг	12,3 ± 0,9	15,4 ± 1,2 *	80 *
Примечание *p≤0,05 в сравнении с контрольными животными			

**Эффективность применения ингибиторов NO-синтазы – производных L-аргинина.** В работе использованы ингибиторы обеих изоформ (конститутивной и индуцибельной) NO-синтазы L-NAME, конститутивной изоформы L-NNA, нейрональной изоформы 6-нитроиндазол и индуцибельной изоформы аминуганидин

Эксперименты показали, что из всех исследованных ингибиторов NO-синтазы только аминуганидин способствовал снижению легочного коэффициента у отравленных животных, как при профилактическом, так и при лечебном применении (табл 14)

Эффективным оказалось и лечебное введение L-NAME, но только к 24 ч эксперимента, которое сопровождалось снижением ЛК отравленных животных. Следовательно, положительный эффект при токсическом отеке легких, вызванном фосгеном, достигался применением ингибиторов обеих изоформ фермента. Однако наибольшей эффективностью сопровождалось блокирование индуцибельной изоформы фермента.

В результате проведенных исследований было установлено, что применение блокаторов NO-синтазы различных механизмов действия при токсическом отеке легких является эффективным средством снижения степени поражения легких.

Таблица 14

Эффективность применения производных L-аргинина при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном

Группа животных доза препаратов (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	7,0±0,2	
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	7,5±0,2	17,7±1,8
L-NAME, 50 мг/кг, лечение	7,2±0,4	12,9±1,5*
Аминогуанидин, 50 мг/кг, профилактика	7,6±0,9	12,8±0,8*
Аминогуанидин, 50 мг/кг, лечение	8,1±0,4	12,3±0,5*
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными		

**Профилактика и лечение токсического отека легких ингибиторами протеиназ и фосфолипазы A<sub>2</sub>.** Для оценки роли протеаз нейтрофилов и фосфолипазы A<sub>2</sub> в патогенезе ТОЛ исследовали эффективность использования специфических ингибиторов сериновых и аспартильных протеаз, а также фосфолипазы A<sub>2</sub> для профилактики и лечения ТОЛ

Таблица 15

Эффективность ингибиторов протеиназ при токсическом отеке легких, вызванном огравлением фосгеном

Группа животных, доза препаратов (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	7,0±0,2	
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	10,6±1,3	16,7±0,8
Бензилсульфохлорид, 50 мг/кг, лечение	9,2±0,6	14,4±0,7*
N-этилмалеинимид, 3 мг/кг, профилактика	8,0±0,5*	13,2±1,2*
N-этилмалеинимид, 3 мг/кг, лечение	7,9±0,2*	15,1±1,2
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными		

Результаты исследования защитного действия ингибиторов протеиназ при профилактическом и лечебном применении представлены в табл 15. Установлено, что лечебное применение бензилсульфохлорида, а также профилактическое и лечебное использование N-этилмалеинимида приводило к замедлению нарастания ЛК, причем в группе профилактического введения N-этилмалеинимида положительный эффект наблюдался как на 3 ч, так и на 24 ч эксперимента. Аналогичным образом действовал  $\alpha$ , $\beta$ -дибромацетофенон, как при профилактическом, так и при лечебном применении, способствуя замедлению нарастания легочного отека на 24 ч наблюдения.

Выполненные исследования позволили установить, что ингибиторы как сериновых (бензилсульфохлорид), так и аспартильных протеиназ (N-этилмалеинимид) являются эффективными при отравлении фосгеном, подавляя развитие отека легких и способствуя повышению выживаемости отравленных животных. Ингибиторы фосфолипазы A<sub>2</sub> ( $\alpha$ , $\beta$ -дибромацетофенон,  $\alpha$ -бромацетофенон) оказались практически неэффективными при данном отравлении.

Таким образом, установлена эффективность профилактического и лечебного применения ингибиторов протеиназ при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном.

Применение в качестве препарата сравнения официального лекарственного средства апротинина (контрикала) в дозах 250, 500 и 1000 ЕД/кг не приводило к достоверному снижению легочного коэффициента и выживаемости животных.

**Эффективность профилактического и лечебного применения антиоксидантов.** Опыты показали, что наибольшей эффективностью при профилактическом и лечебном применении обладают унитиол и тиосульфат натрия – они способствовали значительному снижению легочного отека и увеличению выживаемости экспериментальных животных (табл 16).

Так, при профилактическом применении унитиола ЛК снижался на 3 ч эксперимента до  $8,5 \pm 0,6$  и на 24 ч до  $14,4 \pm 1,6$ . Тиосульфат натрия был одинаково эффективен при лечебном и профилактическом применении. В группе животных, получавших тиосульфат натрия профилактически, ЛК составил  $8,5 \pm 0,4$  на 3 ч и  $11,3 \pm 1,2$  на 24 ч, а при лечебном применении  $7,8 \pm 1,0$  и  $12,8 \pm 1,9$  (в контрольной группе  $11,3 \pm 0,8$  и  $20,8 \pm 1,2$ , соответственно). Эффективным оказалось профилактическое применение ДМСО в соевом масле, приводящее к снижению отека легких через 24 ч после отравления (ЛК  $11,2 \pm 0,7$  по сравнению с  $15,2 \pm 0,5$  в контроле) и полностью предотвратившее гибель животных.

Введение аскорбиновой кислоты позволяло снизить ЛК как при лечебном (до  $8,7 \pm 0,8$ ), так и при профилактическом (до  $8,4 \pm 0,4$ ) применении, однако только на 3 ч эксперимента (в контроле  $11,6 \pm 1,0$ ). Мочевая кислота в дозе 100 мг/кг оказалась эффективной только при профилактическом приме-

нении, снижая ЛК до  $9,2 \pm 0,3$  на 3 ч и  $14,6 \pm 0,7$  на 24 ч эксперимента по сравнению с контролем ( $11,8 \pm 0,7$  и  $23,1 \pm 1,4$  соответственно)

Таблица 16

Влияние профилактического и лечебного применения антиоксидантов на выраженность ТОЛ у мышей, отравленных фосгеном

Группа животных, доза препаратов (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	$7,5 \pm 0,5$	
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	$11,6 \pm 1,0$	$16,4 \pm 2,5$
Аскорбиновая кислота 100 мг/кг, профилактика	$8,7 \pm 0,4^*$	$18,1 \pm 2,4$
Аскорбиновая кислота 100 мг/кг, лечение	$8,7 \pm 0,8^*$	$14,4 \pm 0,9$
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	$11,3 \pm 0,8$	$20,8 \pm 1,2$
Унитиол 100 мг/кг, профилактика	$8,5 \pm 0,6^*$	$13,2 \pm 1,3^*$
Унитиол 100 мг/кг, лечение	$10,1 \pm 2,1$	$14,4 \pm 1,6^*$
Тиосульфат натрия 500 мг/кг, профилактика	$8,5 \pm 0,4^*$	$11,3 \pm 1,2^*$
Тиосульфат натрия 500 мг/кг, лечение	$7,8 \pm 1,0^*$	$12,8 \pm 1,9^*$
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	$8,4 \pm 0,4$	$15,2 \pm 0,5$
ДМСО в масле 1 мл/кг, профилактика	$8,1 \pm 1,1$	$11,2 \pm 0,7^*$
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	$11,8 \pm 0,7$	$23,1 \pm 1,4$
Мочевая кислота 100 мг/кг, профилактика	$9,2 \pm 0,3^*$	$14,6 \pm 0,7^*$
Липоевая кислота 5 мг/кг, профилактика	$9,4 \pm 0,1^*$	$18,7 \pm 1,7$
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными		

Кроме того, профилактическое применение мочевиной кислоты позволяло в 1,7 раз повысить выживаемость экспериментальных животных. Подобную эффективность показала липоевая кислота. Профилактическое применение препарата в дозе 5 мг/кг приводило к уменьшению ЛК до  $9,4 \pm 0,1$  на 3 ч

эксперимента, а лечебное применение на 24 ч эксперимента до  $15,6 \pm 1,2$  (в контроле  $11,8 \pm 0,7$  и  $23,1 \pm 1,4$  соответственно) Кроме того, профилактическое применение липоевой кислоты позволяло почти вдвое повысить выживаемость экспериментальных животных

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что из числа исследованных антиоксидантов при профилактическом применении наибольшей эффективностью обладают тиосульфат натрия, унитиол, масляный раствор ДМСО, липоевая кислота и мочева кислота, при лечебном применении наибольшей эффективностью обладают тиосульфат натрия, унитиол, аскорбиновая кислота и диметилсульфоксид Их применение позволяет уменьшить выраженность токсического отека легких

**Профилактическая и лечебная эффективность противовоспалительных средств.** В экспериментах тестировали лекарственные средства – представители следующих фармакологических групп стероидные противовоспалительные гормоны (дексаметазон), нестероидные противовоспалительные препараты (диклофенак натрия, 5-АСК)

Установлено, что при лечебном применении эффективным оказался только диклофенак натрия, уменьшавший ЛК отравленных животных к 3 ч наблюдения до  $7,3 \pm 0,1$  (в контрольной группе  $8,8 \pm 0,5$ ) (табл. 17) На основании полученных данных можно сделать заключение о целесообразности использования диклофенака натрия в качестве лечебного средства на ранней стадии токсического отека легких Мы предположили также, что это соединение может быть применено в комбинации с антиоксидантами для усиления их лечебного эффекта

Таким образом, на основании результатов исследований был выбран ряд соединений, различных по характеру фармакологического действия, позволяющих изменить в положительную сторону хотя бы один из исследованных параметров – ЛК или выживаемость отравленных животных.

Проведенные исследования позволили установить следующее

- новые конденсированные производные индола с антигипоксической активностью Iб, IIб, IIв, IIIа, IIIб и V и VII при профилактическом применении обладают противоэдематозной активностью Наибольшая профилактическая эффективность выявлена у соединения IIIа (тиазоло[4,5-б]индола). Из числа изученных новых производных тиазолоиндола профилактическим противоэдематозным действием обладают препараты №3 и №4 (бромтиазоло[4,5-б]индола гидробромид и бромтиазоло[4,5-б]индол), лечебным действием – соединение №6 (бромтиазоло[4,5-б]индола сукцинимид),
- из числа ингибиторов NO-синтазы при профилактическом применении эффективными являются ингибитор НАДФН-редуктазы ДФИ-йодид, ингибитор индуцибельной изоформы амингуанидин и ингибитор конститутивной изоформы L-NNA, а при лечебном применении – ингибитор индуцибельной изоформы амингуанидин и ингибитор индуцибельной и конститутивной изоформы L-NAME Их использование позволяет уменьшать выра-

женность отека легких, а профилактическое применение ДФИ-иодида кроме того и увеличить выживаемость отравленных животных

Таблица 17

Влияние лечебного и профилактического применения противовоспалительных и противоотечных средств на выраженность ТОЛ у мышей, отравленных фосгеном

Группа животных, доза препарата (мг/кг), способ применения	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения	
	3 ч	24 ч
Интактные	7,5 ± 0,5	
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	11,2 ± 0,8	17,6 ± 1,3
Дексаметазон 20 мг/кг, профилактика,	12,2 ± 0,9	17,1 ± 0,4
Дексаметазон 20 мг/кг, лечение	10,7 ± 0,8	17,3 ± 1,4
Диклофенак натрия 50 мг/кг, профилактика	9,1 ± 0,7	17,6 ± 1,2
Диклофенак натрия 50 мг/кг, лечение	7,3 ± 0,1*	18,4 ± 1,1
Отравление фосгеном, 5,0 мг×мин/л	8,5 ± 0,1	16,4 ± 1,7
5-АСК 50 мг/кг, профилактика	8,7 ± 0,6	12,8 ± 0,4
5-АСК 50 мг/кг, лечение	7,8 ± 0,2	13,3 ± 0,7
Примечание *p≤0,05 в сравнении с контрольными животными		

- из числа ингибиторов протеиназ эффективным при профилактическом использовании является N-этилмалеинимид и ингибитор фосфолипазы A<sub>2</sub> α,п-дигромацетофенон, при лечебном использовании – ингибиторы протеиназ бензилсульфохлорид и N-этилмалеинимид Их использование позволяет уменьшать выраженность отека легких

- из числа исследованных антиоксидантов при профилактическом применении наибольшей эффективностью обладают тиосульфат натрия, унитиол, масляный раствор ДМСО, липолевая кислота и мочевиная кислота, при лечебном применении – тиосульфат натрия, унитиол, аскорбиновая кислота и диметилсульфоксид Их применение позволяет уменьшить выраженность токсического отека легких

- из числа исследованных противовоспалительных средств эффектив-

ным при лечебном применении является диклофенак натрия. Его использование позволяет уменьшать выраженность отека легких на ранней стадии поражения.

### Изучение эффективности комбинированного применения лекарственных средств для лечения токсического отека легких

**Выбор эффективной комбинации лекарственных средств.** Результаты многочисленных экспериментов с комбинациями препаратов «тиосульфат натрия + апротинин» и «унитиол + апротинин» показали, что, применяя их непосредственно после отравления фосгеном, можно снизить ЛК отравленных животных как на 3 ч, так и на 24 ч эксперимента. Кроме того, применение данных комбинаций позволяло в ряде случаев значительно повысить выживаемость экспериментальных животных (до 50% по сравнению со 100% гибелью в контрольной группе).

Таблица 18

Влияние введения трехкомпонентной рецептуры «тори-26», содержащей антиоксидант, на выраженность ТОЛ и выживаемость мышей, отравленных фосгеном

Группа животных, доза препарата (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн ед) в различные сроки наблюдения		Выживаемость через 24 ч, %
	3 ч	24 ч	
Интактные	7,5 ± 0,5		100
Отравление фосгеном 5,0 мг×мин/л	9,7 ± 0,4	14,7 ± 2,0	50
Тиосульфат натрия 500 мг/кг + апротинин 250 ЕД/кг	8,8 ± 0,1*	17,9 ± 0,7	50
Тиосульфат натрия 500 мг/кг + апротинин 250 ЕД/кг + диклофенак натрия 25 мг/кг	7,8 ± 0,3*	16,2 ± 1,7	75
Отравление фосгеном 5,0 мг×мин/л	10,1 ± 0,7	17,2 ± 0,8	0
Унитиол 150 мг/кг + апротинин 250 ЕД/кг	8,5 ± 0,7	16,8 ± 1,6	25
Унитиол 150 мг/кг + апротинин 250 ЕД/кг + диклофенак натрия 25 мг/кг	8,3 ± 0,5*	15,5 ± 1,3	50
Примечание *p≤0,05 в сравнении с контрольными животными			



В дальнейших исследованиях оценивали защитное действие двухкомпонентной комбинации, содержащей тиосульфат натрия (или унитиол) и апротинин (контрикал), с добавлением третьего компонента, в качестве которого использовали аскорбиновую, липоевую кислоты, диклофенак натрия, унитиол, диметилсульфоксид (ДМСО) Результаты экспериментов представлены в табл 18, из которой видно, что при добавлении к комбинации «тиосульфат натрия + апротинин» диклофенака натрия в дозе 25 мг/кг достигнуто усиление защитного эффекта При этом ЛК после применения трехкомпонентной комбинации (рецептура «тори-26») через 3 ч соответствует  $7,8 \pm 0,3$ , по сравнению с  $8,8 \pm 0,1$  при введении двухкомпонентной комбинации и  $9,7 \pm 0,4$  в контрольной группе

В табл 19 представлены результаты исследования выживаемости отравленных животных Установлено, что лечебное применение трехкомпонентной рецептуры «тори-26» достоверно увеличивает выживаемость отравленным фосгеном мышей

Таблица 19

Влияние введения трехкомпонентной рецептуры «тори-26», содержащей антиоксидант, на выживаемость мышей, отравленных фосгеном

Группа животных, доза препарата (мг/кг)	Выживаемость, %
Отравление фосгеном 5,0 мг×мин/л	20
Тиосульфат натрия 500 мг/кг + апротинин 250 ЕД/кг + диклофенак натрия 25 мг/кг	65*
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными	

Таким образом, полученные результаты позволили установить следующее

1 Использование антиоксидантов тиосульфата натрия или унитиола в комбинации с апротинином (контрикалом), а также контрикалом и диклофенаком натрия приводит к потенцированию лечебной эффективности антиоксидантов

2 Для достижения оптимального защитного действия необходимо введение исследуемых комбинаций препаратов в интервале времени от 20 до 40 мин от момента отравления Препараты необходимо использовать в дозах тиосульфат натрия 500 мг/кг, унитиол 150 мг/кг, контрикал 250 ЕД/кг и диклофенак натрия 25 мг/кг.

**Влияние комбинированного применения унитиола, апротинина (контрикала) и диклофенака натрия на морфологическую картину повреждения легких и клеточный состав лаважной жидкости. Морфологический анализ состояния легочной паренхимы и гемодинамики микроцирку-**

литорного русла легких показал, что использование многокомпонентной лечебной рецептуры «тори-26», введенной через 30 мин после отравления фосгеном оказало положительное воздействие на посттоксическое восстановление поврежденных структурных компонентов легких. Положительное влияние лечебных препаратов проявлялось уже через 3 ч после воздействия большими репаративными возможностями как фиксированных структурных клеточных элементов легких, так и подвижных клеточных дифферонов инфильтрата. Это, вероятно, отражало, прежде всего, большие возможности внутриклеточной репарации поврежденных структур, способствующее выживанию большего количества клеток, поврежденных токсическим агентом, а также более быстрому восстановлению их функциональной активности. Особенно наглядно это проявилось в состоянии бронхиального эпителия и секреторных альвеолярных клеток. А также в более активном участии клеточных элементов системы естественной защиты (макрофагов, моноцитов, нейтрофильных лейкоцитов, лимфоцитов) в процессах элиминации деструктивных структур и погибших клеток.

Применение лечебной комбинации препаратов после отравления ускорило наступление и активизировало процесс внутрисосудистого свертывания крови, отдельные моменты которого в легких отравленных мышей уже начали проявляться к этому сроку. Раннее наступление внутрисосудистого свертывания крови явилось естественным стимулятором, ускорившим начало и последующих двух процессов – ретракции и фибринолиза. Тем самым у леченных животных улучшалась проходимость сосудов венозного звена легких, в которых у контрольных животных к 3 ч наблюдались зоны замедленного кровотока, стаз или непроходимость сосудов с формированием фибриноидно-эритроидных или фибриноидно-плазменных тромбов.

В ускорении процессов реканализации активно участвовали внутрисосудистые пристеночные макрофаги, способные секретировать активаторы плазминогена, а также гранулоциты, среди которых эозинофилы, вырабатывающие плазминоген. Значительное количество этих клеток, неоднократно встречавшихся в просветах сосудов, к 3 ч после воздействия успевало элиминировать у леченых мышей часть фибриноидных плазменных масс.

Помимо этого уже через 3 ч после интоксикации у леченых животных отмечали более быстрое освобождение эпителиального пласта бронхов от погибших клеток. Оно, вероятно, было вызвано более активной сократительной деятельностью гладкомышечных клеток бронхиальных стенок. Кроме того, наблюдалось и более быстрое разрушение и утилизация полиморфноядерными лейкоцитами слущенных в просвет бронхов эпителиоцитов, в чем так же проявилась их большая, чем у контрольных животных функциональная активность. В результате уже к 1-м суткам просветы бронхов леченых животных были практически освобождены от некротических масс эпителия в отличие от контрольной группы животных. В то же время сохранившиеся в пласте эпителиальные клетки раньше и активнее восстанавливали клеточную целостность, функциональную активность и непрерывность эпителиального

покрова распластыванием и некоторой гипертрофией клеток. Возобновлялась секреторная активность значительно большего количества опустошенных клеток или имела место дифференцировка в бокаловидные клетки в участках слущивания эпителиоцитов пластами при развитии супрабазальных отекот эпителиа. Активация бокаловидных клеток приводила к восстановлению у леченных животных надэпителиального слоя гликокаликса, вырабатываемого бокаловидными клетками и обладающего защитными бактерицидными свойствами. В результате ни у одного леченного животного к 1-м суткам после воздействия не было обнаружено микробной флоры в бронхах, что отмечали у отдельных животных контрольной группы. Кроме того, отмечалась функциональная активность популяции перибронхиальных малых лимфоцитов, пенитрирующих эпителиальную бронхиальную выстилку.

Положительная динамика в функциональном состоянии к 1-м суткам после воздействия отмечалась и в большем количестве секреторирующих пластинчатые структуры сурфактанта альвеолоцитов II порядка в легких леченных животных.

Положительное влияние рецептуры проявилось и в ранней нормализации формы, агрегационной и гемолитической активности эритроцитов. Очевидно, что те же самые биохимические процессы, явившиеся основой улучшения функциональных возможностей описанных выше популяций клеток легочной ткани леченных животных, не могли не отразиться на улучшении функциональной активности клеток гладкой мускулатуры сосудов и бронхиальной стенки, которую невозможно непосредственно оценивать на гистологических препаратах.

**Изучение клеточного состава лаважной жидкости у отравленных фосгеном мышшей, леченных комбинацией препаратов, позволило установить что лечение отравленных животных комбинацией препаратов (рецептура «тори-26») приводило к уменьшению содержания лимфоцитов, моноцитов, полиморфноядерных лейкоцитов, макрофагов и альвеолоцитов II, но увеличению содержания эпителиальных клеток в лаважной жидкости (рис 8)**

Через 3 ч после ингаляции фосгена у леченных животных в лаважную жидкость попадало такое же количество ядерных клеточных форм, что и у контрольных животных. Однако соотношение клеток изменялось благодаря более активному слущиванию пораженных клеток бронхиального дерева. Из них почти половину составляли слущенные эпителиальные клетки, большей частью бронхиальные. Несколько чаще, чем у контрольных животных встречались бокаловидные клетки.

Среди эпителиальных форм в 11% клеток четко определялись ядра нормального вида при набухшей и вакуолизированной цитоплазме. В мазках лаважной жидкости неоднократно отмечались крупные конгломераты цитоплазматических творожистых масс – остатков эпителиальных клеток. По сравнению с контрольной группой несколько меньшим было содержание в лаваже практически всех типов клеток инфильтрата (относительное и абсолютное), однако у леченных животных была существенно больше среди них

доля клеток нормального вида. Содержание нейтрофильных лейкоцитов у животных группы значительно колебалось от низкого до высокого, но в 2 раза превышало показатель доли клеток нормального вида.

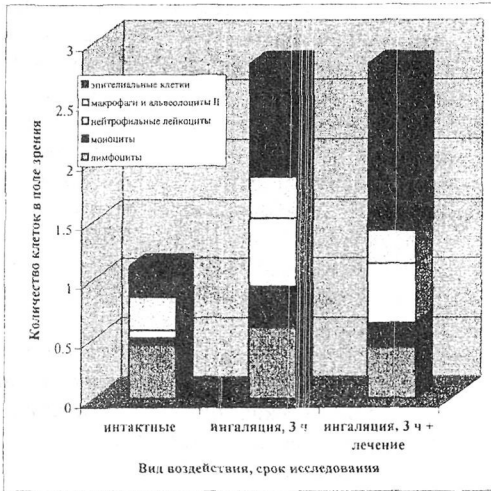


Рис. 8. Частота встречаемости клеток разных клеточных популяций в поле зрения мазка лаважной жидкости.

Наблюдаемое в лаважной жидкости леченных животных к 3 ч эксперимента большое количество слущенных эпителиальных клеток, а также наличие среди них эпителиоцитов с относительно нормальной структурой, вероятно, могло быть связано с более активным слущиванием и отделением от эпителиальной выстилки деструктивных эпителиоцитов. Это, в свою очередь, может быть связано с большим сократительным тонусом стенок бронхиального дерева, способствующее очистке просветов воздухоносных путей. В тоже время большее количество попадающих в просвет воздухоносных путей клеток нормального вида и признаками активных форм у леченных животных свидетельствовало о положительном влиянии на состояние клеток компонентов защитной рецептуры.

Таким образом, обнаруженные закономерности отражали те же структурные изменения в клеточных компонентах азрогематического барьера, которые были выявлены в легких при микроскопическом исследовании.

**Влияние комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия на некоторые показатели гомеостаза.** Исследование влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептура «тори-26») на клеточный состав крови обнаружило существенные различия в содержании клеток крови у животных разных экспериментальных групп. Со стороны эритроцитов и гемоглобина изменения пре-

терпевал только показатель гематокрита, который повышался через 3 ч после отравления в группе леченных рецептурой мышей по сравнению с уровнем интактных животных (табл 20) Через 24 ч после отравления увеличивалось количество эритроцитов и гемоглобина в группе животных, леченных рецептурой «тори-26»

Таблица 20

Содержание эритроцитов в крови мышей, отравленных фосгеном в токсодозе  $LC_{50}$

Группа животных, время после отравления	Содержание эритроцитов, млн/мл	Содержание гемоглобина, г/л	Гематокрит, %
Интактные	8,2±1,4	12,0±0,8	32,2±2,2
Отравление фосгеном, 3 ч	8,8±0,8	12,6±0,3	33,8±2,2
Лечение рецептурой «тори-26», 3 ч	8,9±0,9	13,3±0,7	36,5±2,3*
Лечение унитиолом, 3 ч	7,9±0,2	12,2±0,8	33,6±3,4
Интактные	8,1±0,5	11,5±0,5	33,4±3,0
Отравление фосгеном, 24 ч	8,4±0,8	12,2±0,8	33,0±2,6
Лечение рецептурой «тори-26», 24 ч	9,8±1,1*	13,6±1,2*	37,8±3,8
Лечение унитиолом, 24 ч	8,6±0,3	12,5±0,9	35,3±0,6
Интактные + рецептура «тори-26»	8,0±0,8	11,2±0,5	31,1±2,3
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными			

Со стороны тромбоцитов изменения касались только их общего содержания в крови (табл 21) Применение лечебной комбинации (рецептура «тори-26») сопровождалось тенденцией к росту числа тромбоцитов на 3 ч и на 24 ч эксперимента Отравление фосгеном, а также применение лечебной комбинации «тори-26» и унитиола не приводило к изменениям среднего объема эритроцитов, содержания микро- и макротромбоцитов, а также «истинных» тромбоцитов

Через 24 ч эксперимента относительное и абсолютное содержание клеток в крови не отличалось от контроля, за исключением повышения относительного содержания гранулоцитов

Введение лечебной комбинации «тори-26» или унитиола отравленным животным сопровождалось нормализацией относительного содержания гранулоцитов Введение лечебной комбинации «тори-26» интактным животным приводило к изменению лейкоцитарной формулы Так, относительное содержание лимфоцитов и гранулоцитов снижалось, доля «средних» клеток повышалась При этом снижалось абсолютное содержание клеток гранулоцитарного ряда

Содержание тромбоцитов в крови мышей, отравленных фосгеном  
в токсодозе LC<sub>50</sub>

Группа животных, время после отравления	Содержание тромбоцитов, тыс/мл
Интактные	534,0 ± 100,5
Отравление фосгеном, 30 мин	625,0 ± 246,1
Отравление фосгеном, 3 ч	744,0 ± 43,0*
Лечение рецептурой «тори-26», 3 ч	755,3 ± 207,7
Лечение унитиолом, 3 ч	785,0 ± 59,6*
Интактные	692,0 ± 14,4
Отравление фосгеном, 24 ч	826,3 ± 63,0*
Лечение рецептурой «тори-26», 24 ч	846,8 ± 264,9
Лечение унитиолом, 24 ч	967,3 ± 153,1
Интактные + рецептура «тори-26»	732,7 ± 178,0
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными	

Таким образом, эксперименты позволили установить, что лечение отравленных животных комбинацией препаратов нивелировало наблюдаемые изменения содержания и состава тромбоцитов и лейкоцитов. Введение самой комбинации препаратов интактным животным приводило к изменению лейкоцитарной формулы в сторону лимфо-, гранулоцитопении и эозинофилии-моноцитозу.

Исследование влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия «тори-26» на деформируемость и вязкость эритроцитов показало следующее (табл. 22).

Введение отравленным животным лечебной комбинации препаратов сопровождалось достоверным повышением индекса деформируемости и тенденцией к уменьшению коэффициента вязкости. Другими словами, наблюдалось изменение показателей в сторону нормализации, т.е. возвращению к уровню интактных животных.

Таким образом, введение комбинации препаратов приводило к улучшению реологических свойств эритроцитов леченых животных.

Результаты исследования влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептура «тори-26») на газовый состав крови представлены в табл. 23 и 24.

Таблица 22

Деформируемость и вязкостный показатель эритроцитов мышей через 3 ч после отравления фосгеном

Группа животных	Индекс деформируемости, усл ед	Коэффициент вязкости, усл ед
Интактные	3,30±0,01	1,50±0,04
Отравление фосгеном,	2,37±0,16 *	1,65±0,05 *
Леченные рецептурой «тори-26»	3,00±0,01*#	1,56±0,02
Примечание *p≤0,05 в сравнении с интактными животными, #p≤0,05 в сравнении с контрольными животными		

Таблица 23

Газовый состав крови мышей, отравленных фосгеном в токсодозе LC<sub>t50</sub>

Группа животных, время после отравления	Параметры, единицы измерения					
	pH	pCO <sub>2</sub> , мм рт ст	pO <sub>2</sub> , мм рт ст	tHb, г/л	O <sub>2</sub> Hb, %	COHb, %
Интактные	7,366 ±0,024	32,2 ±6,2	57,0 ±6,0	96,0 ±14,0	72,5 ±4,8	6,3 ±2,0
Отравление фосгеном, 3 ч	7,272 ±0,068 *	42,0 ±3,9 *	53,0 ±14,0	92,0 ±30,0	56,6 ±9,5 *	6,5 ±3,0
Лечение рецептурой «тори-26», 3 ч	7,250 ±0,040 *	41,1 ±6,0	58,0 ±6,0	89,0 ±9,0	63,3 ±3,6	7,0 ±1,6
Лечение унитиолом, 3 ч	7,249 ±0,013 *	46,5 ±3,3 *	53,0 ±7,0	74,0 ±17,0	53,1 ±9,9 *	9,7 ±3,4
Интактные + рецептура «тори-26»	7,300 ±0,024 *	35,6 ±2,4	47,0 ±6,0	78,0 ±6,0 *	53,3 ±7,6 *	4,9 ±1,7
Примечание * p≤0,05 в сравнении с интактными животными, pCO <sub>2</sub> – парциальное давление углекислого газа, pO <sub>2</sub> – парциальное давление кислорода, tHb – содержание общего гемоглобина, O <sub>2</sub> Hb – содержание оксигемоглобина, COHb – содержание карбоксигемоглобина						

Таблица 24

Газовый состав крови (содержание метгемоглобина, восстановленного гемоглобина, кислородное насыщение крови, концентрация кислорода крови, кислородная емкость крови, парциальное давление кислорода) мышей, отравленных фосгеном в токсодозе LC<sub>50</sub>

Группа животных, время после отравления	Параметры, единицы измерения					
	MetHb, %	RHb, %	sO <sub>2m</sub> , %	O <sub>2ct</sub> , об %O <sub>2</sub>	O <sub>2cap</sub> , об %O <sub>2</sub>	P <sub>50</sub> мм рт ст
Интактные	0	22,5 ±5,2	77,3 ±5,7	9,7 ±1,9	12,5 ±1,7	37,4 ±1,4
Отравление фосгеном, 3 ч	0,4 ±0,2	37,9 ±16,2	60,6 ±7,4 *	7,3 ±3,2	12,1 ±4,0	44,8 ±3,8 *
Лечение рецептурой «тори-26», 3 ч	0	30,2 ±2,1 *	68,1 ±2,7 *	7,8 ±1,2	11,5 ±1,3	43,6 ±3,0
Лечение унитиолом, 3 ч	0,2 ±0,1	40,1 ±9,4	57,3 ±8,9 *	5,6 ±2,2	9,5 ±1,9	46,9 ±1,6 *
Интактные + рецептура «тори-26»	0	42,8 ±8,8 *	56,1 ±8,7 *	5,8 ±0,6 *	10,3 ±0,8 *	42,6 ±1,0

Примечание \* p<0,05 по сравнению с интактными животными, MetHb – содержание метгемоглобина, RHb – содержание восстановленного (редуцированного) гемоглобина, sO<sub>2m</sub> – кислородное насыщение крови, O<sub>2ct</sub> – концентрация кислорода крови, O<sub>2cap</sub> – кислородная емкость крови, P<sub>50</sub> – парциальное давление кислорода при 50%-ном насыщении крови

Установлено, что через 3 ч после отравления в группе леченных животных обнаружена нормализация парциального давления углекислого газа (pCO<sub>2</sub>), парциального давления кислорода при 50%-ном насыщении крови (P<sub>50</sub>) и содержания оксигемоглобина по сравнению с уровнем контрольных животных. У леченных животных, по сравнению с контрольными, в крови метгемоглобин не обнаруживался.

Исследование действия рецептуры «тори-26» на изучаемые параметры интактных животных продемонстрировало способность самой рецептуры снижать pH, содержание общего гемоглобина, фракции оксигемоглобина, кислородное насыщение крови, концентрацию общего кислорода, кислородную емкость крови, повышать содержание восстановленного гемоглобина и парциального давления кислорода при 50%-ном насыщении крови, что говорит о самостоятельном токсическом действии комбинации. Лечение отека легких препаратом сравнения унитиолом сопровождалось практически такими же изменениями параметров газов крови.



Через 24 ч после отравления в крови животных, леченных комплексом препаратов, наблюдали нормализацию рН с тенденцией к сдвигу в щелочную сторону. На данный срок наблюдения исследуемые параметры достоверно изменялись только в группе животных, леченных унитиолом. При этом снижалось парциальное давление кислорода, содержание оксигемоглобина, кислородное насыщение крови, повышалось содержание общего гемоглобина, восстановленного гемоглобина и кислородной емкости крови. Кроме этого, в группе контрольных животных через 24 ч после отравления (так же, как и на предыдущий срок исследования) обнаруживался метгемоглобин.

Таким образом, изучение кислородного статуса организма показало, что лечение животных комбинацией препаратов приводило к некоторым улучшениям параметров газового состава крови на фоне сохраняющегося респираторного ацидоза и дыхательной недостаточности. По-видимому, это объясняется выраженным отрицательным влиянием самой комбинации на газовый состав крови интактных животных. Лечение отравленных животных препаратом сравнения унитиолом сопровождалось ухудшением газового состава крови даже по сравнению с контрольными (нелечеными) животными.

Таким образом, установлено, что лечение пораженных животных комбинацией препаратов и унитиолом не оказывало влияния на изменения кислотно-основного состояния.

В результате исследований было установлено, что содержание общего белка в лаважной жидкости у отравленных животных претерпевало существенные изменения. Концентрация белка в лаважной жидкости интактных животных составляла  $0,7 \pm 0,1$  г/л (табл. 25). Через 3 ч после отравления фосгеном его содержание увеличивалось более чем в 10 раз ( $7,9 \pm 1,1$  г/л), а через 1 сут превышало его уровень у интактных животных уже в 25 раз ( $17,2 \pm 2,1$  г/л). Введение отравленным мышам комбинации лекарственных средств, содержащей унитиол, контрикал и диклофенак натрия (рецептура «тори-26»), способствовало сдерживанию роста концентрации белка в лаважной жидкости вдвое по сравнению с контролем ( $4,0 \pm 1,5$  г/л). Через 1 сут у леченных животных содержание белка в лаважной жидкости составляло  $15,4 \pm 1,1$  г/л, то есть не отличалось от уровня, зарегистрированного у контрольных животных.

Полученные результаты дают основание заключить о значительном повышении проницаемости аэрогематического барьера для белка у животных, отравленных фосгеном. Введение комбинации лекарственных средств животным, отравленным фосгеном, приводило к уменьшению проницаемости аэрогематического барьера через 3 ч после отравления. Полученные данные согласуются со степенью снижения ЛК у леченных животных, по сравнению с ЛК, регистрируемым у контрольных животных на 3 ч наблюдения.

Содержание белка в лаважной жидкости мышей, отравленных фосгеном  
в токсодозе  $LC_{t_{16}}$

Группа животных, время после отравления	Содержание белка в лаважной жидкости, г/л
Интактные	$0,7 \pm 0,1$
Отравление фосгеном, 3 ч	$7,9 \pm 1,1$ *
Лечение рецептурой «тори-26», 3 ч	$4,0 \pm 1,5$ *#
Отравление фосгеном, 24 ч	$17,2 \pm 2,1$ *
Лечение рецептурой «тори-26», 24 ч	$15,4 \pm 1,1$ *

Примечание: \* $p \leq 0,05$  в сравнении с интактными животными; # $p \leq 0,05$  в сравнении с контрольными животными.

Изучение влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептуры «тори-26») на содержание веществ низкой и средней молекулярной массы лаважной жидкости позволило установить следующее. Установлено, что содержание ВНСММ в лаважной жидкости отравленных животных достоверно превышает их уровень у интактных животных (рис. 9). Использование унитиола в комбинации с контрикалом и диклофенаком натрия достоверно снижало содержание ВНСММ, приближая к уровню у интактных животных, но не достигая его.



Рис. 9. Содержание ВНСММ в лаважной жидкости мышей через 3 ч после отравления фосгеном ( $LC_{t_{84}}$ )

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о появлении в лаважной жидкости в результате отравления фосгеном продуктов катаболизма, свидетельствующих об эндогенной интоксикации. Применение изучаемой комбинации лекарственных средств приводит к снижению тяжести интоксикации.

В ряде экспериментов оценивали состояние тромбоцитарно-сосудистого и коагуляционного гемостаза животных, леченных комбинацией препаратов, в динамике ТОЛ.

Результаты исследования представлены в табл. 26.

Таблица 26

Показатели гемостаза у мышей, отравленных фосгеном в дозе LC<sub>70</sub>

Группа животных, время после отравления	ДК, мин	ВСК, мин	Адгезия, %	Агрегация, Мин
Интактные	5,13±0,15	1,35±0,20	39,7±3,9	3,8±0,4
Контроль, 3 ч	0,5±0,2 *	0,5±0,1 *	45,3±2,7	2,2±0,3 *
Леченные «тори-26», 3 ч	1,4±0,2 *#	1,1±0,1	46,3±2,7	4,5±0,2 #
Контроль, 24 ч	0,2±0,1 *	0,6±0,1 *	22,3±3,6 *	0,5±0,1 *
Леченные «тори-26», 24 ч	0,4±0,1*	0,8±0,1 *	46,7±3,8	0,6±0,1 *
Контроль препаратов, 3 ч	5,13±0,15	1,35±0,20	56,5±4,0 *	7,8±0,6 *
Контроль препаратов, 24 ч	5,12±0,10	1,40±0,31	52,6±3,0 *	7,2±0,5 *
Примечание: ДК – длительность кровотечения, ВСК – время свертывания крови, СЦК – средний цитохимический коэффициент, *p<0,05 в сравнении с интактными животными, #p<0,05 в сравнении с контрольными животными				

Из таблицы видно, что к 3 ч эксперимента в контрольной группе происходило снижение величин ДК, ВСК, времени агрегации тромбоцитов, индекс их адгезии незначительно превышал уровень интактных животных. У животных, получивших лечение, длительность кровотечения, время свертывания крови и агрегации тромбоцитов возрастали до величин, близких к показателям интактных животных, при этом показатель адгезии не изменялся и соответствовал уровню интактных и отравленных животных.

К 24 ч развития ТОЛ длительность кровотечения, время свертывания крови, индекс адгезии и время агрегации тромбоцитов у животных контрольной группы продолжали снижаться. Лечение отравленных животных комби-

нацией препаратов способствовало нормализации индекса адгезии тромбоцитов и не меняло их агрегационной способности. Интерес представляет тот факт, что введение intactным животным комбинации препаратов само по себе увеличивало индекс адгезии, но снижало агрегационную способность тромбоцитов, не оказывая влияния на длительность кровотечения и время свертывания крови.

Таким образом, установлено, что применяемая лечебная комбинация препаратов снижала повышенную в результате ингаляции фосгена агрегационную способность тромбоцитов и таким образом препятствовала образованию тромбоцитарных сгустков в просвете легочных капилляров. Наблюдаемый эффект связан с действием входящего в состав комбинации ингибитора циклооксигеназы диклофенака натрия.

Изучение влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептуры «тори-26») на общую антиоксидантную активность крови показало следующее. Установлено, что коэффициент  $S/S_1$ , характеризующий степень активности антиоксидантной системы крови, у intactных животных соответствовал  $6,55 \pm 0,12$ . У животных, отравленных фосгеном, через 3 ч показатель увеличивался до  $7,22 \pm 0,13$  ( $p < 0,05$ ). В результате применения исследуемых лекарственных средств («унитиол + контрикал + диклофенак натрия») определяемый показатель через 3 ч наблюдения не превышал значения для intactной группы и соответствовал  $6,26 \pm 0,22$  (рис. 10). Через 24 ч показатели  $S/S_1$ , как у контрольных животных, так и у животных, получавших изучаемую комбинацию, не отличались от уровня у intactных животных ( $6,77 \pm 0,14$  и  $6,84 \pm 0,23$ , соответственно).

Поскольку показатель  $S/S_1$  описывал общую антиоксидантную активность плазмы, можно сделать заключение о снижении у животных, отравленных фосгеном, антиоксидантного резерва крови и возможности его восстановления до уровня intactных животных при использовании исследуемой комбинации лекарственных средств.

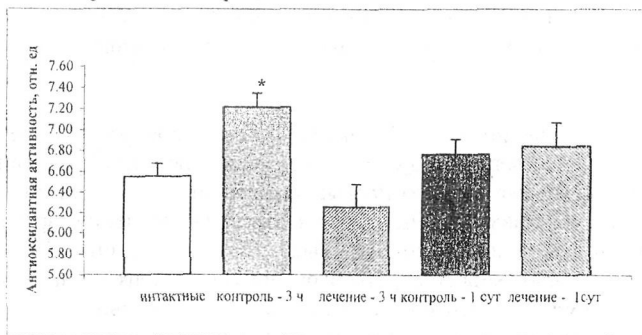


Рис. 10. Общая антиоксидантная активность (величина  $S/S_1$ ) сыворотки крови мышей, отравленных фосгеном ( $LC_{16}$ )

Результаты исследования влияния комбинированного применения унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептуры «тори-26») на активность NO-синтазы в ткани легких представлены в табл. 27

Таблица 27  
Определение содержания нитритов в ткани легких мышей ( $M \pm m$ ,  $n=24$ ), отравленных фосгеном ( $LC_{t_{16}}$ )

Группа животных	Содержание нитритов в различные сроки наблюдения, ед опт плотн	
	3 ч	24 ч
Интактные	0,630 ± 0,015	
Контрольные	0,660 ± 0,018*	0,640 ± 0,009
Леченные рецептурой «тори-26»	0,620 ± 0,002	0,620 ± 0,003
Примечание * $p \leq 0,05$ в сравнении с интактными животными, рецептура «тори-26» – одновременное введение унитиола 150 мг/кг, контрикала 250 ЕД/кг и диклофенака натрия 25 мг/кг через 20 мин после отравления		

Из представленных данных следует, что лечебное введение изучаемой комбинации отравленным животным препятствовало повышению концентрации нитритов на 3 ч наблюдения

Следовательно, лечебное применение исследуемой комбинации лекарственных средств у отравленных фосгеном животных приводило к снижению концентрации нитритов в легочной ткани до уровня интактных животных

Таким образом, проведенные эксперименты позволили установить, что лечебное комбинированное применение унитиола, контрикала и диклофенака натрия (рецептуры «тори-26») при отравлении экспериментальных животных фосгеном нивелировало изменение лейкоцитарной формулы, снижая долю гранулоцитов и «средних» клеток (эозинофилов и моноцитов) в крови, повышало деформируемость и увеличивало вязкостный показатель эритроцитов, улучшая тем самым реологические свойства эритроцитов. Вызывало нормализацию содержания тромбоцитов, снижало их агрегационную способность, препятствовало образованию тромбоцитарных сгустков в просвете легочных капилляров. Приводило к нормализации некоторых параметров газового состава крови на фоне сохраняющегося респираторного ацидоза и дыхательной недостаточности, вызывало нормализацию содержания белка в лаважной жидкости, приводило к снижению тяжести интоксикации, восстановлению антиоксидантного резерва крови до уровня интактных животных, препятствовало повышению концентрации нитритов на ранних стадиях поражения

Результаты работы подтвердили целесообразность применения серусодержащих антиоксидантов унитиола и тиосульфата натрия для профилактики и лечения ТОЛ. Очевидна целесообразность усиления положительного действия этих соединений лекарственными средствами других фармакологических групп. Следует расширить круг поиска препаратов среди ингибиторов NO-синтазы и протеаз. При их использовании в комплексной терапии ТОЛ можно рассчитывать на получение положительных результатов. Все это позволяет надеяться на разработку в будущем эффективных методов экстренной терапии поражений пульмонотоксикантами.

Полученные результаты позволили обосновать пути совершенствования неотложной терапии токсического отека легких:

- применение серусодержащих антиоксидантов, ингибиторов протеаз, нестероидных противовоспалительных средств;
- комбинированное использование лекарственных средств с различным механизмом действия,
- разработка эффективных антигипоксантов из числа производных тиазолоиндола,
- разработка эффективных средств из числа ингибиторов NO-синтазы

## ВЫВОДЫ

1 Для оценки эффективности лекарственных средств при поражении пульмонотоксикантами адекватной (информативной) скрининговой моделью токсического отека легких является отек легких, вызванный фосгеном, у мелких лабораторных грызунов (мыши). Модель позволяет оценить выраженность отека легких по расчетному легочному коэффициенту, а также эффективность профилактики и лечения токсического отека легких на ранней стадии развития отравления и на стадии разрешения патологического процесса.

2 Патогенетическими признаками отравления фосгеном у экспериментальных животных является развитие эмфиземы и отека легких. При этом в лаважной жидкости увеличивается содержание белка и веществ низкой и средней молекулярной массы. В крови снижается содержание малонового диальдегида, повышается содержание SH-групп и SS-групп, увеличивается содержание веществ низкой и средней молекулярной массы, снижается антиоксидантный резерв, увеличивается общее число тромбоцитов, гранулоцитов и «средних» клеток (эозинофилов и моноцитов), ослабляется деформируемость и увеличивается вязкостный показатель эритроцитов, активируются тромбоцитарно-сосудистый и коагуляционный механизмы гемостаза с повышением адгезионной и агрегационной способности тромбоцитов, снижается рН и содержания оксигемоглобина, повышается парциальное давление углекислого газа. В легких развивается дегрануляция гранулоцитов и повышается концентрация нитритов.

3 Новые конденсированные производные индола проявляют выраженную противозематозную активность. Из их числа профилактическим действием обладают соединения Ib, Ib, Ib, IIIa, IIIb и V и VII. При этом наиболее эффективным является препарат IIIa (тиазоло[4,5-b]индол). Его применение позволяет предотвратить как формирование токсического отека легких, так и смертность отравленных животных. Из числа изученных новых производных тиазолоиндола наиболее выраженным профилактическим действием обладают препараты бромтиазоло[4,5-b]индола гидробромид и бромтиазоло[4,5-b]индол, лечебным действием – бромтиазоло[4,5-b]индола сукцинимид.

4 При профилактическом применении эффективно защищают от токсического отека легких ингибитор НАДФН-редуктазы ДФИ-иодид, ингибитор индуцибельной изоформы аминогуанидин и ингибитор конститутивной изоформы L-NNA. При лечебном применении наиболее эффективны ингибитор индуцибельной изоформы аминогуанидин и ингибитор индуцибельной и конститутивной изоформы L-NAME. Их использование позволяет уменьшать выраженность отека легких и увеличивать выживаемость отравленных животных (профилактическое применение ДФИ-иодида).

5 Среди ингибиторов протеиназ эффективным для купирования отека легких при профилактическом использовании является N-этилмалеинимид, при лечебном использовании – бензилсульфохлорид и N-этилмалеинимид. Их использование позволяет существенно уменьшать выраженность отека легких.

6 Среди исследованных антиоксидантов выраженным противозематозным действием при профилактическом применении обладают тиосульфат натрия, унитиол, масляный раствор диметилсульфоксида, липолевая кислота и мочева кислота, при лечебном применении наибольшей эффективностью обладают тиосульфат натрия, унитиол, аскорбиновая кислота и диметилсульфоксид. Их применение позволяет уменьшить выраженность токсического отека легких.

7 Среди исследованных противовоспалительных средств наиболее эффективное лечебное противозематозное действие достигается при применении диклофенака натрия. Его использование позволяет уменьшать выраженность отека легких на ранней стадии поражения фосгеном.

8 Наиболее эффективной лечебной противозематозной комбинацией веществ является сочетанное применение унитиола, апротинина (контрикала) и диклофенака натрия (рецептура «тори-26»). Предложенная рецептура замедляет развитие токсического отека легких на ранних стадиях поражения фосгеном и повышает выживаемость животных.

9 Эффективность комбинации унитиола с апротинином (контрикалом) и диклофенаком натрия (рецептура «тори-26») при токсическом отеке легких обусловлена снижением повышенной проницаемости азрогематического барьера для жидкости, белков и лейкоцитов, уменьшением интоксикации, увеличением общего антиоксидантного резерва крови, снижением повышен-

ного содержания тромбоцитов и лейкоцитов в крови, улучшением реологических свойств эритроцитов, снижением повышенной агрегационной способности тромбоцитов, нормализацией повышенной активности NO-синтазы в ткани легких. Использование данной комбинации в значительной степени восстанавливает поврежденные структурные компоненты легких, улучшает проходимость сосудов венозного звена легких, восстанавливает проходимость дыхательных путей, функциональную активность клеток, в том числе секреторную активность бокаловидных клеток и альвеолоцитов II

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Для оценки эффективности противоэдематозных средств целесообразно использовать модель токсического отека легких, вызванного пульмонотоксикантом фосгеном в токсодозах LC<sub>16-84</sub>. Модель отличается высокой воспроизводимостью отека, типичное течение, отсутствие поражения важнейших органов и систем (сердце, печень, почки, мозг) за исключением легких.

Поиск эффективных противоэдематозных средств целесообразно вести среди серусодержащих антиоксидантов, ингибиторов протеаз, нестероидных противовоспалительных средств, производных тиазолиноидов и ингибиторов NO-синтазы.

Конденсированные производные индола представляют группу перспективных противоэдематозных средств, требующих дополнительного исследования на предмет обнаружения и дополнительного изучения антигипоксической, антиоксидантной и противовоспалительной активности.

Пути совершенствования неотложной терапии токсического отека легких видятся в комбинировании лекарственных средств с разным механизмом действия (противовоспалительным, антиоксидантным, антипротеиназным). Примером эффективной противоэдематозной рецептуры может служить комбинация унитиола, апротинина (контрикала) и диклофенака натрия (рецептура «тори-26»).

### **Список основных публикаций по теме диссертации**

1 Поиск средств профилактики и ранней терапии токсического отека легких, вызванного ингаляцией фосгена / П.А. Торкунов, А.В. Земляной, Ю.А. Лупачев, А.А. Тяптин // Матер. науч.-практич. конф. «Актуальные проблемы и перспективы развития военно-морской гигиены, эпидемиологии, радиологии и токсикологии» – Обнинск, 1999 – С. 31

2 Поиск средств профилактики и ранней терапии токсического отека легких, вызванного ингаляцией аммиака / П.А. Торкунов, А.В. Земляной, Ю.А. Лупачев, А.А. Тяптин // Матер. науч.-практич. конф. «Актуальные проблемы и перспективы развития военно-морской гигиены, эпидемиологии, радиологии и токсикологии» – Обнинск, 1999 – С. 104



3 Состояние функции внешнего дыхания крыс при поражении аммиаком и хлором / П А Торкунов, Ю А Лупачев, М Б Варлашова, А В Земляной, Н Н Плужников // Токсикол вест – 2000 – №5 – С 22-24

4 Сравнительная оценка эффективности парентерального и ингаляционного применения антиоксидантов для предупреждения токсического отека легких / П А Торкунов, Н Н Плужников, А В Земляной, Ю А Лупачев, А А Тяптин, М Б Варлашова // Актуальные вопросы военно-полевой терапии Вып III Медицинские последствия экстремальных воздействий на организм – СПб, 2000 – С 266

5 Лечение антиоксидантами унитиолом и ДМСО позволяет уменьшить токсический отек легких, вызванный хлором / П А Торкунов, Н Н Плужников, А А Земляной, Ю А Лупачев, А А Тяптин, М Б Варлашова // VII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» – Москва, 2000 – С 535

6 Новая биологическая активность тиазолоиндолов / П А Торкунов, В В Марышева, Е А Лебедева // Матер конфер «Молодые ученые и специалисты здравоохранению Санкт-Петербурга в XXI веке» – СПб, 2000 – С 45-46

7 Статья на спецтему / П А Торкунов, Ю А Лупачев, М Б Варлашова, А В Земляной, В В Марышева // Актуальные проблемы военной медицины Новые аспекты поражающего действия ОМП и защиты от него (Сборник трудов к 70-летию ГНИИИВМ МО РФ) – СПб, 2000 – С 88-93

8 Статья на спецтему / П А Торкунов, Ю А Лупачев, М Б Варлашова, А В Земляной, Н Н Плужников // Актуальные проблемы военной медицины Новые аспекты поражающего действия ОМП и защиты от него (Сборник трудов к 70-летию ГНИИИВМ МО РФ) – СПб, 2000 – С 93-98

9 Состояние антиоксидантной системы крови и легких крыс при токсическом отеке легких / П А Торкунов, Н Н Плужников, А А Тяптин, Ю А Лупачев, М Б Варлашова, А В Земляной, Н Ю Новоселова // Биомед химия – 2000 – Т 46, № 6 – С 564-573

10 The treatment of ammonia poisoning by taurine in combination with a broncholytic drugs / P A Torkounov, A Zemlyanoy, Yu Lupachyov, A Tyapтин, M Varlashova, N Novoselova // Adv Exp Med Biol (New York Kluwer Academic/Plenum Publ ) 2000 Vol 483 – P 627-630

11 Влияние глутаминовой кислоты на показатели интоксикации у белых крыс при отравлении аммиаком / Ю А Лупачев, А В Земляной, М Б Варлашова, А А Тяптин, П А Торкунов // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины Вып II – СПб, 2000 – С 36-42

12 Применение ингаляции серусодержащих антиоксидантов для лечения отравления аммиаком / Ю А Лупачев, А В Земляной, М Б Варлашова, А А Тяптин, П А Торкунов // Матер науч-практич конф «Медицинские средства защиты от физических, химических и биологических факторов проблемы, достижения и перспективы» – СПб, 2000 – С 107-108

13 Ингаляция унитиола, а также таурина в сочетании с бронхолитиками и уменьшает поражение легких у крыс, отравленных аммиаком / Н Н Плужников, А В Земляной, Ю А Лупачев, А А Тяптин, П А Торкунов, М Б Варлашова // VII Рос нац конгресс «Человек и лекарство» – М, 2000 – С 535

14 Экспериментальный поиск препаратов, эффективных при отравлении продуктами горения полимерных материалов / Ю А Лупачев, А В Земляной, М Б Варлашова, А А Тяптин, П А Торкунов // Матер Рос. науч.-практич конф «Военная медицина на рубеже XXI века реалии и перспективы» – М, 2000 – С 237

15 Экспериментальное изучение эффективности применения производного пиридоксина при отравлении аммиаком / П А Торкунов, Н Н Плужников, А В Земляной // Матер Рос науч.-практич конф «Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности» – СПб, 2001 – С 421

16 Использование производного пиридоксина позволяет уменьшить смертность крыс, отравленных аммиаком / Ю А Лупачев, А В Земляной, М Б Варлашова, П А Торкунов // Матер науч.-практич конф «Актуальные проблемы обитаемости, радиационной и химической безопасности кораблей и судов ВМФ» – СПб, 2001 – С 106

17 2-Амино-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол, защищающий организм от воздействия гипоксии и токсического отека легкого / П А Торкунов, В В Марышева, П Д Шабанов, М Б Варлашова, А В Земляной // Патент РФ № 2188824 – Бюл изобр – 2002 – № 25 – С 382

18 Противоэдематозная активность новых антигипоксантов / В В Марышева, П А Торкунов, П Д Шабанов // Мат III Всеросс конф «Гипоксия. Механизмы, адаптация, коррекция» – Москва, 2002 – С 81

19 Комбинированное использование лекарственных средств как возможный способ экспериментальной терапии токсического отека легких / П А Торкунов, Н Н Плужников, А А Земляной, Ю А Лупачев, А А Тяптин, М Б Варлашова // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины Том 3 – СПб, 2002 – С 119

20 Статья на спецтему / П А Торкунов, Ю.А Лупачев, М Б Варлашова, А В Земляной // ВОКОР – ГЛ 2002 (Медико-биологические аспекты обеспечения обитаемости подводных лодок) – Материалы межотраслевой научно-практической конференции, посвящ 70-летию 1 ЦНИИ МО РФ, Инв № 10727 – СПб, 2002 – С 107

21 Антигипоксическая и противоэдематозная активность новых конденсированных производных индола / П А Торкунов, В В Марышева, М Б Варлашова, А В Земляной, П Д Шабанов // Эксперим и клин фармакология – 2002 – Т 65, № 4 – С 51-55

22 Изучение роли фосфолипазы А2 и протеаз нейтрофилов в развитии токсического отека легких / П А Торкунов, А А Земляной, Ю А Лупачев, М Б Варлашова // Медико-гигиенические аспекты обеспечения работ с осо-

бо опасными химическими веществами Тр науч -практ конф , посвящ 40-летию НИИГПЭЧ – СПб , 2002 – С 242

23 Исследование роли протеиназ нейтрофилов в развитии токсического отека легких / П А Торкунов, Н Н Плужников, В П Федонюк, А А Земляной, Ю А Лупачев, М Б Варлашова // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины Науч тр НИИ воен медицины Т 4 – СПб , 2003 – С 189-195

24 Применение ингаляции кислот для лечения экспериментального отравления аммиаком / П А Торкунов, Н Н Плужников, А А Тяптин, А А Земляной, Ю А Лупачев, М Б Варлашова // Токсикол вестн – 2003 – № 1 – С 20-25

25 Оценка участия протеаз нейтрофилов в развитии токсического отека легких / Торкунов П А , Марышева В В , Варлашова М Б , Земляной А В , Аратюнян А А , Тищенко А Б // Актуальные вопросы военно-полевой терапии Вып 4 Терапевтическая помощь в экстремальных ситуациях – СПб , 2003 – С 215-217

26 Защитное действие белков теплового шока при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме / С Б Оникиенко, А В Земляной, П А Торкунов, М Б Варлашова, Е Н Михальцова, Г А Баранов // Матер 2-го съезда токсикологов России – М Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России, 2003 – С. 186-187

27. Марышева В В , Шабанов П.Д , Торкунов П А Гидробромид 2-амино-7-бром-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индола, защищающий печень от отравления четыреххлористым углеродом и от токсического отека легкого при профилактическом приеме // Пол решение от 14 03 2007 г по заявке на патент РФ № 2004128101

28 Состояние антиоксидантной системы мозга крыс при токсическом отеке легких / П А Торкунов, Н Н Плужников, А А Тяптин, А А Земляной, Ю А Лупачев, М Б Варлашова // Биомед химия. – 2004 – Т 50, № 1 – С 57-63

29 7-Бром-4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол-2-сукцинимид, защищающий организм от гипоксии и обладающий лечебным действием в отношении токсического отека легкого / В В Марышева, П Д Шабанов, П А Торкунов // Патент РФ № 2281950 – Бюл изобр – 20 08 2006 – № 23

30 4-ацетилтиазоло[5,4-b]индол-2-сукцинимид, защищающий организм от гипоксии и обладающий профилактическим действием в отношении токсического отека легкого / В В Марышева, П Д Шабанов, П А Торкунов // Патент РФ № 2281951 – Бюл изобр – 20 08 2006 – № 23

31 Защитное действие производных тиазола – [5,4-b]индола при токсическом отеке легких / В В Марышева, П Д Шабанов, П А Торкунов // Бюл. эксперим биол и мед – 2006 – Т 141, №4 – С 418-422

32 Исследование роли протеаз нейтрофилов в развитии токсического отека легких / П А Торкунов // Психофармакол и биол наркот – 2007 – Т 7, №1 – С 1448-1452

33 Защитное действие различных солей дифенилиодиния при экспериментальном токсическом отеке легких / П А Торкунов, А В Земляной, П Д Шабанов // Психофармакол и биол наркот 2007 Т 7 №1 С 1453-1458

34 Применение ингибиторов NO-синтазы, производных L-аргинина, для предотвращения развития токсического отека легких при отравлении фосгеном / П А Торкунов, П Д Шабанов // Бюл эксперим биол и мед 2007 Т 142 №12 (принята к печати)

35 Изучение противоотечного действия солей дифенилиодиния при экспериментальном токсическом отеке легких / П А Торкунов, А В Земляной, П Д Шабанов // Эксперим и клин фармакология – 2007 – Т 70, № 6 (принята к печати)

36 Патофизиология токсического отека легких / П А Торкунов, П Д Шабанов – СПб Элби-СПб, 2007 – 176 с (монография)

37 Фармакологическая коррекция токсического отека легких / П А Торкунов, А В Земляной, П Д Шабанов – СПб Элби-СПб, 2007 – 176 с (монография)

\*\*\*\*\*

Автор выражает благодарность и признательность сотрудникам НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ Земляному А В, Лупачеву Ю А, Варлашовой М Б, Воробьевой Р Л, Родионову Г Г, Павловой Л П, Сусловой И М, Леденцовой Н С, Алексеевой И И, а также сотруднику Военно-медицинской академии им С М Кирова Марышевой В В, в совместной работе с которыми получена часть материалов, использованных в диссертации