

© Коллектив авторов, 2018  
УДК 615.099.06

Юдин М.А.<sup>1</sup>, Коньшаков Ю.О.<sup>2</sup>, Венгерович Н.Г.<sup>1</sup>, Владимирова О.О.<sup>1</sup>,  
Алексеева И.И.<sup>1</sup>, Шербашов К.А.<sup>2</sup>, Быков В.Н.<sup>1</sup>

## Изучение последствий острых поражений веществами пульмонотоксического действия

<sup>1</sup> ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»

Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Лесопарковая, д. 4

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академии им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Лебедева, д. 6

**Цель исследования** — изучение особенностей развития последствий острого поражения веществами пульмонотоксического действия. **Методика.** Исследование выполнено на 160 белых нелинейных крысах-самцах массой 180—220 г. Для оценки развития последствий острого поражения пульмонотоксикантами использовали модели отравления фосгеном, диоксидом азота и паракватом. Проводили оценку гравиметрических показателей легочной ткани и изменений толерантности к физической нагрузке по показателю продолжительности плавания «до отказа» с грузом 7% от массы тела животного. Также проводилась морфологическая оценка тяжести поражения ткани легких. **Результаты.** Установлено, что однократное поражение крыс пульмонотоксикантами в дозе 1LC<sub>50</sub> в остром периоде сопровождается развитием комплекса морфологических и функциональных изменений, характерных для токсического отека лёгких. У части животных наблюдалось выраженное снижение функциональных возможностей, патологоанатомическим субстратом которых являлось нарушение структуры легочной паренхимы с деструкцией и фиброзированием бронхов и сосудов, развитием выраженной панацинарной эмфиземы, которая в 35% случаев сочетается с хроническими гнойно-деструктивными изменениями в легочной ткани. **Заключение.** Частота развития необратимых последствий поражений веществами пульмонотоксического действия составила: 60% случаев при отравлении паракватом, 40 и 20% при поражении фосгеном и диоксидом азота, соответственно.

**Ключевые слова:** пульмонотоксикант; эмфизема легких; фиброз; фосген; диоксид азота.

**Для цитирования:** Юдин М.А., Коньшаков Ю.О., Венгерович Н.Г., Владимирова О.О., Алексеева И.И., Шербашов К.А., Быков В.Н. Изучение последствий острых поражений веществами пульмонотоксического действия. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(1): 71—76. DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.71-76

**Для корреспонденции:** Венгерович Николай Григорьевич, канд. мед. наук, заместитель начальника научно-исследовательского испытательного отдела e-mail: nickolai@vengerovich.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 23.03.2017

Yudin M.A.<sup>1</sup>, Kon`shakov Yu.O.<sup>2</sup>, Vengerovich N.G.<sup>1</sup>, Vladimirova O.O.<sup>1</sup>,  
Aleksееva I.I.<sup>1</sup>, Sherbashov K.A.<sup>2</sup>, Bykov V.N.<sup>1</sup>

## The study of consequences of acute injuries by agents of pulmonotoxic action

<sup>1</sup> State Scientific Research Test Institute of Military Medicine (The Russian Federation Department of Defense);

4, ul. Lesoparkovaya, 195043, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Medical Military Academy named after S.M. Kirov (The Russian Federation Department of Defense),

6, ul. Akademika Lebedeva, 194044, St. Petersburg, Russia

**The purpose** is to study features of an acute injury progression in case of poisoning by agents of pulmonotoxic action. Experimental work was done in a model of 160 white non-linear male rats weighing 180—220 g. For the assessment of an acute injury development after poisoning by agents of pulmonotoxic action the models of phosgene, nitrogen dioxide and paraquat poisoning were used. The assessment of gravimetric characteristics of lung tissue and changes of physical activity tolerance according to the rate of swimming duration to the full with 7%-load of body mass was carried out. The morphological assessment of severity of lung tissue injury was carried out as well. **Results.** It was found out that a single exposure of rats with pulmonotoxicants in 1LC<sub>50</sub> during its acute period was accompanied by the development of a range of morphological and functional changes which were typical for the course of toxic pulmonary edema. As a consequence of poisoning in a half of animals an evident decrease of functional abilities was observed. Pathologicoanatomic substrate of these abilities was the abnormality of lung parenchyma with destruction and bronchial tube and vessel fibrosis, that in 35% of cases matched with

chronical purulent-destructive changes in lung tissue. **Conclusion.** The rate of consequences development after pulmonotoxic agents exposure was the following: 60% cases after paraquat exposure, 40% and 20% after phosgene and nitrogen dioxide respectively.

**Keywords:** pulmonotoxic agent, pulmonary emphysema, fibrosis, phosgene, nitrogen dioxide.

**For citation:** Yudin M.A., Kon'shakov Yu.O., Vengerovich N.G., Vladimirova O.O., Alekseeva I.I., Sherbashov K.A., Bykov V.N. The study of consequences of acute injuries by agents of pulmonotoxic action. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(1): 71–76. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.71-76

**For correspondence:** Nickolai G. Vengerovich, PhD, Deputy Head of Department of State Scientific Research Test Institute of Military Medicine (The Russian Federation Department of Defense); 4, ul. Lesoparkovaya, St. Petersburg, 195043, Russian Federation, e-mail: nickolai@vengerovich.ru

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

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

Information about authors:

Vengerovich N.G., <http://orcid.org/0000-0003-3219-341X>

Kon'shakov Yu.O., <http://orcid.org/0000-0001-8596-6469>

Received 23.03.2017

## Введение

Среди сильно действующих и ядовитых веществ наибольшую угрозу представляют вещества пульмонотоксического действия (ВПД). Доля этих веществ, в частности фосгена и окислов азота, в процессах технологического производства составляет до 60% от всего объема аварийно-опасных соединений [1, 6]. Выбросы ВПД в окружающую атмосферу при крупных авариях и катастрофах на объектах по их производству или хранению характеризуются массовыми отравлениями, которые сопровождаются тяжелыми поражениями органов дыхания, развитием токсического отека легких нередко с летальным исходом [2]. Схемы лечения поражений фосгеном и окислами азота характеризуются низкой эффективностью. Отравления, вызванные ВПД, средней и тяжелой степени, практически всегда сопровождаются в отдаленном периоде нарушением функций внешнего дыхания, газообмена и развитием хронической дыхательной недостаточности [3]. Исследованиям характера повреждений легочной ткани при поражении ВПД посвящено значительное количество работ, однако противоречивость данных и различные подходы к моделированию таких поражений в эксперименте затрудняют интерпретацию полученных результатов. Изучение частоты и особенностей развития последствий отравлений веществами пульмонотоксического действия со стороны дыхательной системы позволит определить основные направления их медикаментозной профилактики.

**Цель исследования** — изучение особенностей развития последствий острого поражения веществами пульмонотоксического действия.

## Методика

Эксперименты выполнены на 160 белых нелинейных крысах самцах массой 180—220 г. (питомник «Рапполово», Ленинградская обл.). На проведение исследований получено специальное разрешение Комитета.

В качестве модельных ВПД использовали фосген (дихлорангидрид угольной кислоты) и диоксид азота. Ингаляцию веществ проводили методом «статической заправки» в герметичной камере общим объемом 0,25 м<sup>3</sup>, оснащенной системой рециркуляции воздушно-газового потока. Экспозицию веществ пульмонотоксического действия в токсодозах, соответствующих 1 LCt<sub>50</sub>, осуществляли однократно в течение 30 мин. При исследовании частоты и особенностей развития последствий отравлений пульмонотоксикантами в качестве токсиканта сравнения с доказанным пульмонотропным действием использовали паракват (1,1'-диметил-4,4'-дипиридилий дихлорид) [4]. Водный раствор параквата вводили однократно внутривенно в дозе 1 LD<sub>50</sub>.

Через 1 ч, а также на 1-е, 14-е и 30-е сут. после отравления веществами пульмонотоксического действия проводили оценку гравиметрических показателей легочной ткани. Рассчитывали легочный коэффициент, характеризующий отношение массы влажных легких к массе тела животного X 1000, и значение сухого остатка легких по отношению массы высушенных легких к массе влажных легких этого же животного (%). В динамике на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сут. регистрировали изменение толерантности к физической нагрузке по показателю длительности плавания до отказа с грузом 7% от массы тела жи-

вотного. Макро- и микроскопическая оценка поражения легких проводилась на 30-е сут. с использованием микроскопа Olympus (CX41), Япония. Микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван-Гизон.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программы Statistica 10. Расчет мер центральных тенденций и мер рассеяния проводили общепринятыми статистическими методами. Проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с использованием критерия Шапиро—Уилка. Для сравнения средних величин и установления значимых различий использовали непараметрические критерии Манна—Уитни, Вилкоксона и Краскела—Уоллиса. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины принималась нулевая гипотеза. Оценку выживаемости проводили с использованием процедуры Каплан—Майера.

### Результаты и обсуждение

Динамика выживаемости крыс после поражения ВПД (токсодоза 1 LC<sub>50</sub>) представлена на рис. 1.

Как видно из графика, максимальное число летальных исходов отмечено в 1-е сут. после отравления диоксидом азота, а также на 2-е — 3-и и — 4-е сут. после отравления фосгеном и паракватом, соответственно. Динамика гибели после поражения указанными токсикантами соответствует результатам других исследователей [6]. Необходимо отметить случаи гибели животных через 7 и 14 сут. при изучении у жи-

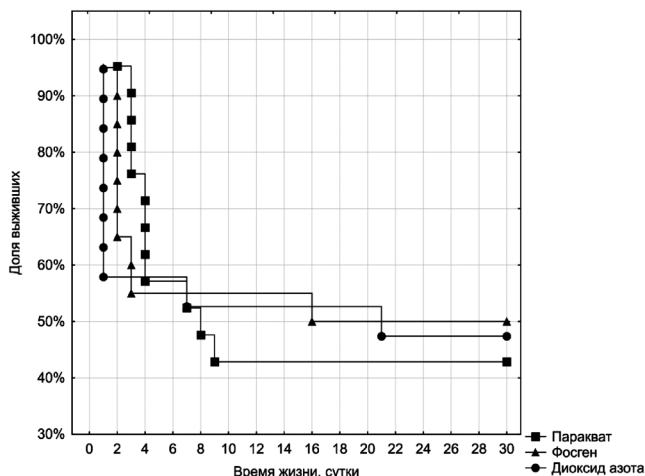


Рис. 1. Срок наступления гибели крыс после ингаляционного отравления диоксидом азота и фосгеном в токсодозе 1 LC<sub>50</sub>, внутрибрюшинного введения параквата в дозе 1 LD<sub>50</sub>.

вотных физической работоспособности в тесте плавание с грузом до отказа. Причиной гибели отравленных крыс после тестирования могла быть декомпенсация функции дыхательной системы.

При морфологической оценке органов дыхания у животных, погибших через 1 сут. после отравления фосгеном и диоксидом азота, в просвете трахеи и бронхов отмечали скопление пенистой жидкости. Слизистая оболочка бронхов была блестящей, гладкой, бледной с мелкими очагами поверхностных кровоизлияний. Выявленные в легких изменения свидетельствовали о формировании токсического отека легких.

Для подтверждения этого предположения в другой серии экспериментов исследовали динамику колебаний

Таблица 1

Динамика изменений легочного коэффициента после ингаляционного отравления крыс диоксидом азота, фосгеном и внутрибрюшинного введения параквата, (Med[Q25;Q75], n = 10)

Токсикант 1 LC <sub>50</sub>	Интактные	1 ч	24 ч	14 сут.	30 сут.
Фосген	6,41 [5,82;6,86]	6,3 [5,93;6,67]	13,82 [12,41;15,23] *	6,61 [6,38;6,84]	6,56 [6,18;7,02]
Диоксид азота		8,9 [7,97;9,21] *	9,45 [7,28;11,63] *	6,38 [5,97;6,8]	7,14 [6,82;9,26]
Паракват		6,18 [5,77;6,6]	5,44 [4,52;6,57]	8,5 [5,6;11,4]	7,93 [5,9;9,5]

Примечание. \* — различия с показателями интактной группы статистически значимы при p<0,05.

Таблица 2

Динамика показателей сухого остатка легких после ингаляционного отравления крыс диоксидом азота, фосгеном и внутрибрюшинного введения параквата, (Med[Q25;Q75] n = 10)

Токсикант 1 LC <sub>50</sub>	Интактные	1 ч	24 ч	14 сут.	30 сут.
Фосген	19,73 [18,79;20,21]	20,03 [19,44;20,63]	16,46 [14,43;18,49] *	17,85 [16,54;19,16]	19,54 [18,78;20,32]
Диоксид азота		15,73 [14,38;17,07] *	16,48 [15,7;17,02] *	19,33 [18,94;19,73]	19,1 [18,9;19,88]
Паракват		18,92 [17,82;19,02]	19,21 [18,06;20,36]	18,7 [18,69;18,73]	18,87 [18,67;18,94]

Примечание. \* — различия с показателями интактной группы статистически значимы при p<0,05

гравиметрических показателей легких. Динамика изменений гравиметрических показателей легких крыс после поражения ВПД представлена в табл. 1 и 2.

Для каждого пульмонотоксиканта отмечали различную динамику развития токсического отека легких. Через 1 сут. после отравления животных фосгеном регистрировали увеличение легочного коэффициента в 2-2,5 раза относительно интактной группы, которое обусловлено накоплением интерстициальной жидкости и клеточных элементов крови в ткани легкого. На прогрессирование токсического отека легких указывало увеличение массы органа и, как следствие, снижение сухого остатка легких. В дальнейшем (14-е и 30-е сут.) показатели гравиметрии соответствовали значениям интактной группы.

Диоксид азота, в отличие от фосгена, вызывал изменения гравиметрических показателей уже через 1 ч после окончания экспозиции, с последующим прогрессированием в течение 1-х сут. Различия во времени развития признаков токсического отека легких связаны с прямым цитотоксическим действием диоксида азота на альвеолоциты в то время, как у фосгена токсическое действие реализуется за счет вторичного повреждения клеток избытком активных форм кислорода [7].

После отравления крыс паракватом в дозе 1 LD<sub>50</sub> в исследуемые сроки наблюдения изменений гравиметрических показателей легких не регистрировали. По данным некоторых авторов изменение легочного коэффициента после тяжелых поражений паракватом происходит не ранее чем через 48 ч [8].

Через 30 сут. после поражения пульмонотоксикантами данные гравиметрии легочной ткани между группами статистически значимо не отличались и соответствовали значениям близким к интактным, несмотря на отклонения показателей у отдельных животных.

В легких животных, погибших через 6—9 сут. после поражения веществами пульмонотоксического действия, выявляли множественные гнойные очаги в различной стадии их развития и разрешения. В ряде случаев они занимали значительную часть легкого, что могло обуславливать гибель животных от инфек-

ционных осложнений после разрешения токсического отека легких.

Убедительные данные, указывающие на различную степень компенсации нарушений дыхания после поражения фосгеном, диоксидом азота и паракватом, были получены при оценке физической работоспособности крыс в тесте плавания с 7% «грузом до отказа» (табл. 3).

Как видно из данных табл. 3, имело место статистически значимое снижение физической работоспособности в 1-е сут. после отравления, независимо от использованного токсиканта, что напрямую отражало признаки острого периода отравлений. В отличие от других пульмонотоксикантов, через 7 сут. после поражения паракватом у крыс сохранялось снижение показателя физической работоспособности, что могло быть обусловлено его длительным резорбтивным эффектом [9]. К 14-м сут. после поражения ВПД физическая работоспособность крыс восстанавливалась до уровня контрольной группы. Через 30 сут. от момента экспозиции модельных пульмонотоксикантов, в частности фосгена и параквата, отмечали снижение длительности плавания у крыс. Максимум снижения показателя регистрировали после введения параквата, тогда как диоксид азота не оказывал значимого влияния на физическую работоспособность на данном сроке наблюдения. Для уточнения данного показателя определяли долю животных в каждой экспериментальной группе, время плавания которых на 30-е сут. было статистически значимо ниже показателей интактной группы. Доля таких крыс после введения параквата, где наблюдалось наиболее выраженное нарушение работоспособности, составляла 60%, после введения фосгена — 40%, диоксида азота — 20%.

Для изучения особенностей повреждения легочной ткани животных со сниженной работоспособностью проводили патоморфологическое исследование. Для сравнения использовали животных контрольной группы.

У животных с незначительным снижением толерантности к физической нагрузке легочный коэффициент и сухой остаток легких, как правило, соответствовал контрольным значениям. В ткани легких выявлялись

Таблица 3

Динамика плавания крыс (секунды) «до отказа с грузом» в различные сроки после ингаляционного отравления диоксидом азота, фосгеном и внутрибрюшинного введения параквата, (Med[Q25;Q75])

Токсикант 1LCt <sub>50</sub>	1 сут.	7 сут.	14 сут.	21 сут.	30 сут.
Интактные	397,5 [250;535] n = 10	430 [385;745] n = 10	480 [390;900] n = 10	395 [355;900] n = 9	595 [520;725] n = 9
Фосген	210 [175;390] * n = 19	410 [315;900] n = 11	680 [405;900] n = 11	510 [480;650] n = 10	460 [280;540] * n = 10
Диоксид азота	245 [195;340] * n = 13	525 [375;900] n = 8	870 [400;900] n = 8	610 [370;650] n = 7	550 [490;900] n = 7
Паракват	270 [160;350] * n = 20	280 [105;340] * n = 9	482 [325;900] n = 6	260 [230;405] n = 6	372 [275;525] * n = 6
Примечание. * — различия с показателями интактной группы статистически значимы при p<0,05.					



участки краевой эмфиземы в сочетании с участками дистелектаза, утолщенные межальвеолярные перегородки (рис. 2, А), умеренный отек подслизистой ткани мелких бронхов со сдуванием эпителия слизистой оболочки. Поражение легочных сосудов характеризовалось мукозным пропитыванием их стенки, паравазальной клеточной инфильтрацией и утолщением межальвеолярных перегородок (рис. 2, Б, В).

У животных со значительным снижением времени плавания отмечали выраженные нарушения структуры легочной ткани. При гистологическом исследовании у 35% животных наблюдали единичные или множественные хронические абсцессы легких, окруженные плотной соединительнотканной капсулой (рис. 2, Г). Ткань легких была представлена преимущественно эмфизематозными участками с мелкими зонами дистелектаза (рис. 2, Д). На гистологических срезах отмечали множественную деструкцию мелких бронхов с разрастанием коллагеновых волокон по периферии (рис. 2, Е).

Выявленные морфологические изменения, проявляющиеся диффузной эмфиземой и выраженными нарушениями структуры легочной паренхимы, были характерны для поражений всеми использованными в работе веществами пульмотоксического действия.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сформулировать следующие выводы:

1. Острые отравления фосгеном, диоксидом азота и паракватом в одной среднелетальной дозе сопровождаются развитием отдаленных последствий интоксикации с выраженными нарушениями структуры легочной паренхимы и снижением толерантности к физической нагрузке через 30 сут. после отравления.

2. Частота встречаемости последствий поражений веществами пульмотоксического действия по данным исследования физической работоспособности достигает: 60% случаев при отравлении паракватом, 40 и 20% при поражении фосгеном и диоксидом азота, соответственно.

3. Морфологическая картина повреждений ткани легких через 30 сут. после ингаляционной заправки веществами пульмотоксического действия характеризуется развитием панацинарной эмфиземы, сопровождающейся деструкцией мелких бронхов, спадением и разрушением стенок легочных сосудов.

4. Развитие последствий острых поражений пульмотоксикантами не зависит от типа используемых в эксперименте веществ и в 35% случаев сочетается с развитием множественных хронических абсцессов.

5. Модель однократного отравления крыс фосгеном и паракватом в одной среднелетальной дозе может быть использована для обоснования направлений фармакологической коррекции эмфизематозных и фиброзирующих изменений со стороны легочной паренхимы.

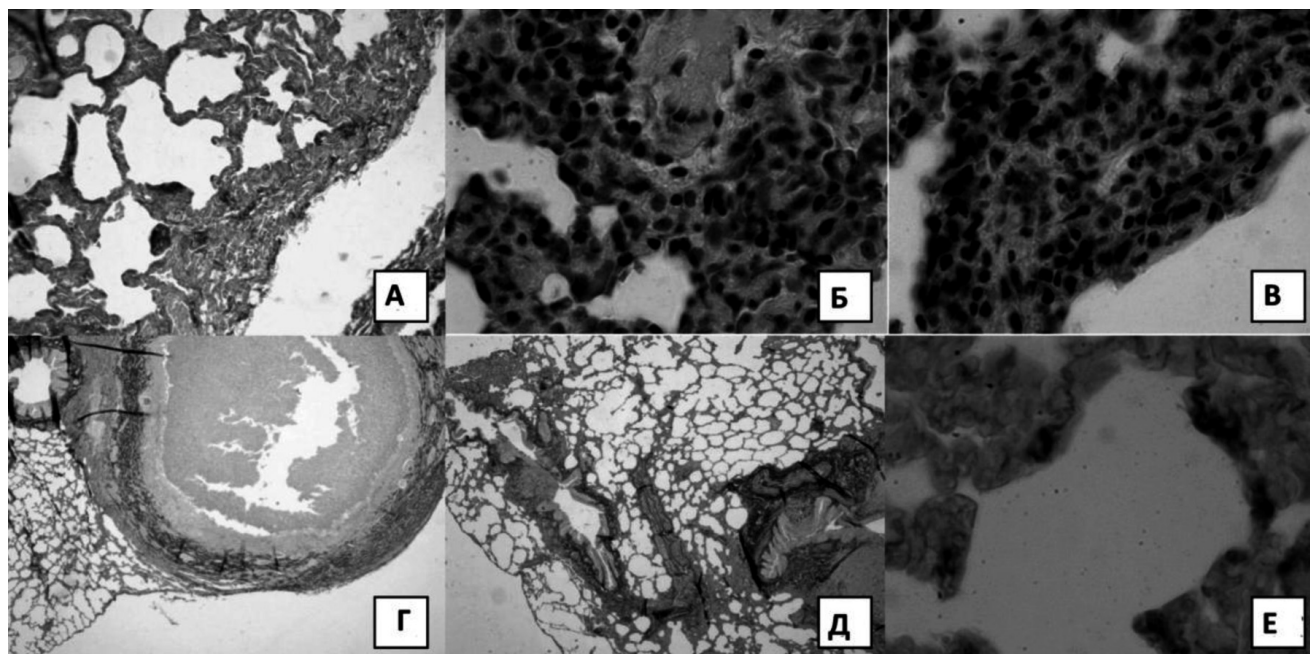


Рис. 2. Гистологическая картина ткани легкого через 30 сут. после ингаляционного отравления диоксидом азота и фосгеном в токсодозе 1 LC<sub>50</sub>, внутрибрюшинного введения параквата в дозе 1 LD<sub>50</sub>. А — Отравление паракватом. Окраска по Ван Гизон. Ув. х 40; Б, В — Отравление диоксидом азота. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х 1000; Г — Отравление фосгеном. Окраска по Ван Гизон. Ув. х 40; Д — Отравление диоксидом азота. Окраска по Ван Гизон. Ув. х 40; Е — Отравление паракватом. Окраска по Ван Гизон. Ув. х 200

## References

1. Isaev B.C., Vladimirov V.A. Emergency chemical hazardous substances. *Strategiya grazhdanskoj zashchity: problemy i issledovaniya*. 2012; 2(1): 618-55. (in Russian)

3. Torkunov P.A., Shabanov P.D. *The pathogenesis of toxic pulmonary edema. [Patogenez toksicheskogo oteka legkikh]*. Saint Petersburg; Elbi-SPb; 2007. (in Russian)

2. Mikhno E.P. *Dealing with the consequences of accidents and natural disasters. [Likvidatsiya posledstviy avariy i stihiynykh bedstviy]*. Moscow; Atomizdat; 1979. (in Russian)

4. Pauluhn J., Carson A., Costa D.L., Gordon T., Kodavanti U., Last J.A. et al. Workshop summary: phosgene-induced pulmonary toxicity revisited: appraisal of early and late markers of pulmonary injury from animal models with emphasis on human significance. *Inhalation toxicology*. 2007; 19(10): 789-810.

5. Smith P., Heath D., Kay J.M. The pathogenesis and structure of paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. *The Journal of pathology*. 1974; 114(2): 57-67.

6. Ruzanova E.A., Drachkova I.M., Tolkach P.G. *Comparative study of effectiveness of inhaled antioxidants and sodium*

*cromoglycate in rat model of asphyxiant-induced acute lung injury*. 2013. [Sравnitel'nyy analiz effektivnosti ingalyatsionnogo vvedeniya antioksidantov i kromoglikata natriya pri otravlenii kryis pul'monotoksikantami]. Available at: <http://www.medline.ru/public/art/tom14/art23.html> (Accessed 20 March 2013). (in Russian)

7. Holmes W.W., Keyser B.M., Paradiso D.C., Ray R., Andres D.K., Benton B.J. et al. Conceptual approaches for treatment of phosgene inhalation-induced lung injury. *Toxicology letters*. 2015; 224: 8-20.

8. Giri S.N., Hollinger M.A., Schiedt M.J. The effects of paraquat and superoxide dismutase on pulmonary vascular permeability and edema in mice. *Archives of Environmental Health: An International Journal*. 1981; 36(4): 149-54.

9. Dinis-Oliveira R.J., Duarte J.A., Sanchez-Navarro A., Remiao F., Bastos M.L., Carvalho F. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Critical reviews in toxicology*. 2008; 38(1): 13-71.

## Сведения об авторах:

Юдин Михаил Анатольевич, доктор мед. наук доцент, начальник отдела ФГБУ «ГНИ испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России;

Коньшаков Юрий Олегович, клинический ординатор ФГБВОУ ВПО ВМА им. С.М. Кирова Министерства обороны России;

Венгерович Николай Григорьевич, канд. мед. наук, заместитель начальника отдела ФГБУ «ГНИ испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России, e-mail: [nickolai@vengerovich.ru](mailto:nickolai@vengerovich.ru);

Владимирова Ольга Олеговна, канд. биол. наук, науч. сотр. отдела ФГБУ «ГНИ испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России;

Алексеева Ирина Ивановна, науч. сотр. отдела ФГБУ «ГНИ испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России;

Шербашов Константин Анатольевич, адъюнкт каф. токсикологии ФГБВОУ ВПО ВМА им. С.М. Кирова Министерства обороны России;

Быков Владимир Николаевич, доктор мед. наук, проф., заместитель начальника по научной работе ФГБУ «ГНИ испытательный институт военной медицины» Министерства обороны России.