

© Д. М. Бойко

УДК 616.24-002.17-092.9

Д. М. Бойко

## АНАЛІЗ МЕТОДИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ БЛЕОМІЦИН-ІНДУКОВАНОГО ФІБРОЗУ ЛЕГЕНЬ

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Робота є фрагментом науково-дослідної теми: «Клініко-функціональні та морфологічні особливості перебігу захворювань респіраторної системи (туберкульозу, саркоїдозу, дисемінованих процесів та ХНЗЛ) на різних етапах лікування, реабілітації та профілактики», номер держреєстрації 0110U008151.

**Вступ.** Як клінічному, так і експериментальному вивченню проблеми ідіопатичного фіброзуючого альвеоліту на сьогоднішній день приділяється все більше уваги [2, 3].

Важливу роль у розумінні процесів патогенезу та вдосконаленні методів лікування відіграють методики моделювання фіброзу легень (ФЛ) у експерименті. Найбільш поширеною є модель ФЛ з використанням інтратрахеальної інстиляції гідрохлориду блеоміцину щурам [4, 8, 9]. Суттєвим недоліком цього методу являється складність трансрахеального введення гідрохлориду блеоміцину у зв'язку з необхідністю хірургічного втручання для доступу до трахеї, що може підвищувати ризик летальності лабораторних тварин та потребувати додаткових ресурсів на ініціацію патології.

**Мета дослідження.** Провести комплексний аналіз моделі фіброзу легень у щурів, яким трансракально вводили розчин гідрохлориду блеоміцину та оцінити ступінь відтворюваності запланованого патологічного процесу.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконано на базі ЕКБ віварій Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія». Вся експериментальна частина дослідження, з використанням тварин, проведена згідно дотримання міжнародних принципів Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях» (Страсбург, 1985) та норм біомедичної етики, відповідно Законам України № 3446-IV 21.02.2006 р., м.Київ, «Про захист тварин від жорстокого поводження» з проведенням медико-біологічних досліджень, та етичного кодексу лікаря України та ученого.

Тривалість експерименту склала – 8 тижнів. Щурам одноразово трансракально інстилювали в легені 0,3 мл розчину гідрохлориду блеоміцину з розрахунку 1,0 мг/100 г маси тіла.

У дослідження включено 72 статевозрілих щурів лінії Вістар масою 257,5 (229,2; 280,1) грамів та віком 7,2 (6,7; 7,4) місяці. З 48 щурів сформували чотири дослідницькі групи по 12 особин в кожній. Одна група щурів, у яких моделювали фіброз легень (ФЛ), знаходилась без лікування. Інші дослідницькі групи тварин з експериментальною патологією розподілені з урахуванням отриманого лікування

– дексаметазон, глюкозаміну сульфат чи комбінація імунофану та гіалуронідази. Контрольну групу склали 24 щури, яких розділили на 4 групи. У частини щурів контрольної гурпи не застосовували ніяких лікарських засобів. Ряд тварин без експериментальної патології, в залежності від групи, отримували один із перелічених варіантів лікування: дексаметазон, глюкозаміну сульфат, комбінацію імунофану та гіалуронідази. Режим введення та додавання препаратів: дексаметазон (KRKA, Словенія) по 0,08 мг/кг, в/м, через 2 дні; глюкозаміну сульфат (Дона (Rottapharm Ltd.) та «Sigmar S. r. l.» для «Rottapharm S. r. l.», Ірландія/Італія) по 5,33 мг/кг, в/м, через 2 дні; комбінація імунофану (Біюнокс (Росія Москва)) по 0,67 мкг/кг, в/м та гіалуронідази (Лідаза-Біофарма, ЗАТ (Україна, Київ)) по 0,85 Од/кг в/м, через 2 дні. Всі вищевказані лікарські препарати на момент їх використання у дослідженні мали державну реєстрацію та повний пакет дозвільних документів відповідно до чинного законодавства України. Тривалість лікування склала від 4 до 8 тижнів в окремих групах. Щурам проведено комплексне клініко-лабораторне, морфологічне, макроскопічне обстеження. Вилучені від експериментальних тварин тканини підлягали підготовці до світлової мікроскопії за загально прийнятою методикою [5]. Препарати фарбували за допомогою гематоксиліну та еозину. Аналіз макро- та мікроскопічних змін легень щурів проводили на 4-му та 8-му тижнях експерименту.

Порівняння отриманих показників проводилось з використанням непараметричних методів (таблиць 2x2 з обчисленням точного критерію Фішера) за допомогою програми Epi Info (TM) 3. 5. 3 (CDC, 17.07.2008) [1, 6, 7]. Відмінності вважалися статистично достовірними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Стан системи органів дихання оцінювали за наявністю макро- (гіперінфляція – підвищена повітряність легеневої тканини; емфізематозні булі) та мікроскопічних (емфізема; запальні зміни в інтерстиції легень; запальні зміни у бронхах) змін у легенях щурів з експериментальною моделлю ФЛ. Для проведення якісного порівняльного аналізу, перш за все, було досліджено стан легень щурів з груп контролю (**рис. 1**).

У тварин контрольної групи аномального рівня макро- та мікроскопічних змін не спостерігалось (**рис. 1**). Групи між собою статистичних відмінностей не мали. Отже, отримані результати дають можливість говорити про високий профіль безпечності використаних лікарських препаратів по відношенню до легеневої тканини та дозволяють використовувати ці дані в якості «еталону норми» при порівнянні з тваринами, у яких штучно викликали ФЛ.

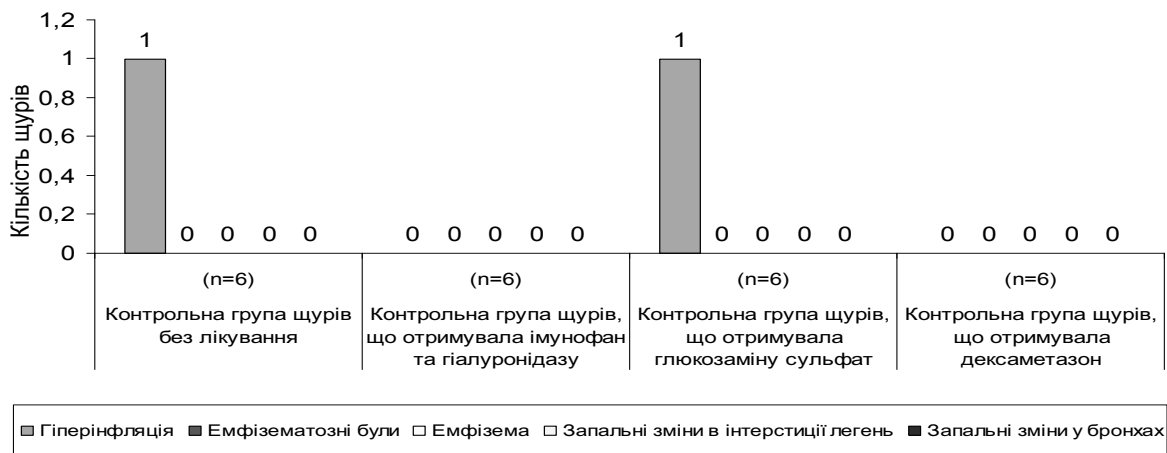


Рис. 1. Порівняння морфологічних змін у щурів з груп контролю.

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні з контрольною групою щурів без лікування; 2. † –  $p < 0,05$  при порівнянні груп щурів, які отримували глюкозаміну сульфат і комбінацію імунофану з гіалуронідазою, та з групою, де застосовували дексаметазон; 3. # –  $p < 0,05$  при порівнянні груп щурів, які отримували глюкозаміну сульфат і комбінацію імунофану з гіалуронідазою.

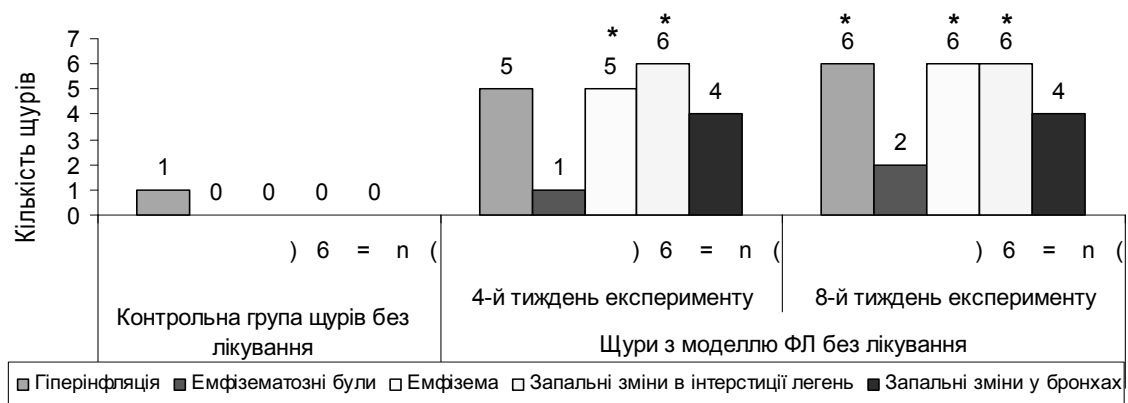


Рис. 2. Співставлення макро- та мікроскопічних змін в легенях щурів з експериментальним моделюванням фіброзу легень (ФЛ) порівняно з контрольною групою.

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні з контрольною групою щурів без лікування; † –  $p < 0,05$  при порівнянні між групами щурів з моделлю ФЛ без лікування на 4-му та на 8-му тижні експерименту.

Динаміку морфологічних змін у легенях тварин з ФЛ оцінювали на 4-му та 8-му тижнях експерименту (рис. 2).

За наявності ознак емфіземи та запальних змін у інтерстиції легень щури з індукованим ФЛ, як на ранніх (4 тижні), так і на більш пізніх (8 тижнів) етапах експерименту, достовірно ( $p < 0,05$ ) переважали групу контролю (рис. 2).

Майже у 91% (11/12) щурів з експериментальною моделлю ФЛ були виявлені характерні [4] запальні зміни, осередки емфіземи та ознаки фібропластичної трансформації легеневої тканини (рис. 3).

Порівняльний аналіз характерних морфологічних ознак ФЛ між інтактними щурами та тваринами експериментальної групи через 8 тижнів експерименту виявив значимі відмінності (довірчий інтервал 95% для відношення шансів 24,00 (2,05; 646,24) та відносного ризику 4,29 (1,97; 9,32); точний критерій Фішера,  $p = 0,0023$ ). За динамікою макро- та мікроскопічних змін у легеневої тканині групи щурів з моделлю ФЛ на 4-му та 8-му тижнях експерименту достовірно не відрізнялись ( $p = 0,83$ ). Такі результати

дослідження свідчать про високі показники відтвореності даної експериментальної моделі фіброзу легень у щурів.

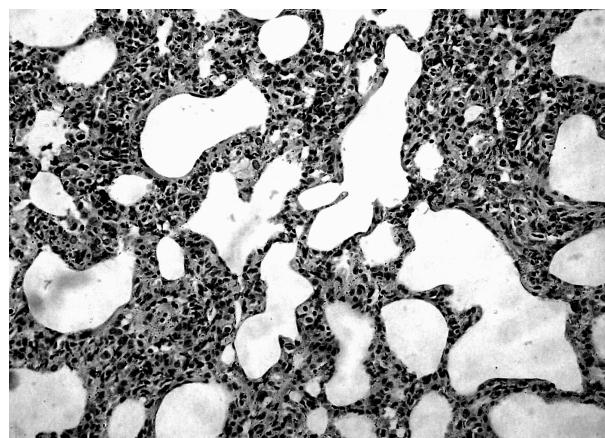


Рис. 3. Зміни у легенях щурів з експериментальною моделлю фіброзу легень. Фарбування гематоксиліном та еозином. 3б. х200.

**Висновки.** Після трансторакальної інстиляції розчину гідрохлориду блеоміцину у щурів були виявлені характерні ознаки патологічної трансформації легеневої тканини (запальні зміни в інтерстиції легень, ознаки фібропластичної трансформації легеневої тканини, осередки емфіземи) як на 4-му, так і на на 8-му тижні експерименту.

Серед переважної більшості щурів (91%), яким трансторакально вводили розчин гідрохлориду блеоміцину, були виявлені очікувані морфологічні зміни.

Детальний аналіз морфологічних змін легень щурів з експериментальною моделлю фіброзу легень вказує на високий рівень відтворюваності запланованої патології серед тварин експериментальних груп.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальша робота у даному напрямку дозволить розробити нові методи корекції запалення та процесів фіброзування при ідіопатичних інтерстиціальних пневмоніях.

### Список літератури

1. Герасимов А. Н. Медицинская статистика: Учебное пособие / Герасимов А. Н. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 480 с.
2. Интерстициальные болезни легких: Практическое руководство / [ Коган Е. А., Корнев Б. М., Попова Е. Н. и др. ]; под ред. Н. А. Мухина. – М.: Литература, 2007. – 432 с.
3. Ідіопатичні інтерстиціальні пневмонії: класифікація, діагностика, лікування: Методичний посібник / Ю. І. Феценко, В. К. Гаврисюк, С. І. Лещенко [та ін.]. – К.: ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського АМН України», ДНМУ ім. М. Горького. – 2008. – 31 с.
4. Моделирование заболеваний легких (Пособие для научных работников) / Л. Н. Данилов, Е. С. Лебедева, Ю. А. Кирилов СПб: НИИ пульмонологии, 2005. – 31 с.
5. Морфологічні зміни серця старих щурів при тривалому введенні активаторів КАТФ-каналів (діазоксиду та його аналогів) К. В. Тарасова, В. Г. Шевчук, О. В. Григорук [та ін.] // Пробл. старения и долголетия. – 2011. – Том. 20. – №4. – С. 381-392.
6. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
7. Халфарян А. А. STATISTICA 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей: Учебник / А. А. Халфарян. – М.: Издательство Бинном, 2010. – 496 с.
8. Anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of sirolimus on bleomycin-induced pulmonary fibrosis / B. Tulek, E. Kiyani, H. Toy [et al.] // Clin. Invest. Med. – 2011. – Vol. 34 (6). – P. 341.
9. Mouratis M. A. Modeling pulmonary fibrosis with bleomycin / M. A. Mouratis, V. Aidinis // Curr. Opin. Pulm. Med. – 2011. – Vol. 17 (5). – P. 355-361.

УДК 616. 24-002. 17-092. 9

#### АНАЛІЗ МЕТОДИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ БЛЕОМІЦИН-ІНДУКОВАНОГО ФІБРОЗУ ЛЕГЕНЬ

**Бойко Д. М.**

**Резюме.** У даному науковому дослідженні за показниками макро- та мікроскопічних змін у легенях щурів з блеоміцин-індукованим фіброзом легень проведено оцінку ступеня відтворюваності запланованого патологічного процесу. Детальний аналіз морфологічних змін легень щурів з експериментальною моделлю фіброзу легень вказує на високий рівень відтворюваності запланованої патології серед тварин експериментальних груп.

**Ключові слова:** фіброз легень, блеоміцин, щури.

УДК 616. 24-002. 17-092. 9

#### АНАЛИЗ МЕТОДИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ БЛЕОМИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ФИБРОЗА ЛЕГКИХ

**Бойко Д. Н.**

**Резюме.** В данном научном исследовании по показателям макро- и микроскопических изменений в легких крыс с блеомицин-индуцированным фиброзом легких проведена оценка степени воспроизводимости запланированного патологического процесса. Детальный анализ морфологических изменений легких крыс с экспериментальной моделью фиброза легких указывает на высокий уровень воспроизводимости запланированной патологии среди животных экспериментальных групп.

**Ключевые слова:** фиброз легких, блеомицин, крысы.

UDC 616. 24-002. 17-092. 9

#### Analysis Of The Methods Of Experimental Modeling Of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis

**Boyko D. M.**

**Summary.** In this research study on indicators of macro-and microscopic changes in the lungs of rats with bleomycin-induced pulmonary fibrosis assess the degree of reproducibility of the planned pathological process. Detailed analysis of the morphological changes of the rats with experimental model of pulmonary fibrosis indicates a high level of reproducibility of the planned experimental pathology among the animals.

**Key words:** pulmonary fibrosis, bleomycin, rats.

Стаття надійшла 3.10.1012 р.

Рецензент – проф. Ярешко А. Г.