

УДК: 611.24: 591.476: 572.5: 612.824.1: 612.014.482:616.092.9

**Шатов Д.В.\***, **Григорьев П.Е.**

## **АНАЛИЗ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПАРЕНХИМЫ ЛЁГКИХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ИТРАКОНАЗОЛА И КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ**

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» г. Симферополь

*С целью определения степени влияния контролируемых факторов (воздействие, половая принадлежность и их взаимодействие) на морфологическую структуру паренхимы лёгких крыс линии Вистар, получавших итраконазол и ксеногенную цереброспинальную жидкость, проведён двухфакторный дисперсионный анализ. Фактор воздействия влиял на все результирующие признаки морфометрии лёгких крыс. Контролируемый фактор половой принадлежности оказывает относительно высокую степень влияния на процентное содержание участков с дистелектазами и кровоизлияниями, не влияя на остальные показатели морфометрии. Взаимодействие факторов оказывает максимальное влияние на процентное содержание кровоизлияний, минимальное – на процентное содержание дистелектазов.*

Ключевые слова: паренхима лёгких, морфометрия, цереброспинальная жидкость, итраконазол, коррекция.

### **Введение**

Итраконазол – липофильное лекарственное вещество, применяемое в терапии инвазивных микозов. Механизм действия итраконазола связан с ингибированием изоферментов СYP3A4, СYP3A5 и СYP3A7, что приводит к угнетению эргостерола – важного компонента клеточной мембраны грибов. При этом концентрация итраконазола при терапии в лёгких в 2-3 раза превышает плазменную концентрацию [10]. В другом исследовании описано положительное действие итраконазола у пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого за счёт антиангиогенного эффекта [7]. Кроме этого, описаны случаи развития пневмонита, индуцированного приёмом итраконазола [8, 12].

Ранее было обнаружено, что введение итраконазола крысам сопровождалось нарушением морфометрических показателей паренхимы лёгких, наиболее выраженное у самок. Введение ксеногенной цереброспинальной жидкости (КЦСЖ) сопровождалось изменениями, которые носили разнонаправленный характер у самок и самцов. Для уточнения факта и степени влияния контролируемых факторов воздействия (плацебо, применение итраконазола в сочетании с плацебо, применение итраконазола в сочетании с КЦСЖ) и половой принадлежности (самки и самцы) на результирующие признаки морфометрии лёгких был проведён двухфакторный дисперсионный анализ.

### **Цель исследования**

Выяснить факт и степень влияния контролируемых факторов воздействия, половой принадлежности и их взаимодействия на результирующие признаки морфометрии паренхимы лёгких.

### **Материалы и методы**

Исследование проведено на 30 крысах линии Вистар обоих полов зрелого возраста (5 месяцев). Животные были разделены на следующие группы (по 6 животных в каждой): группа плацебо (П), группа итраконазола + плацебо (И+П), группа итраконазола + КЦСЖ (И+КЦСЖ). В качестве плацебо вводили внутримышечно 0,9% раствор натрия хлорида по схеме в дозе 0,002 мл/г с интервалом 2 дня (всего 10 введений). КЦСЖ вводили внутримышечно по аналогичной схеме. Ксеногенную цереброспинальную жидкость получали путём субокципитальной пункции у лактирующих коров с сохранением в ампулах после пропускания через бактериальные фильтры «Миллипор» [5]. Животным ежедневно вводили через гастральный зонд препарат «Итракон» в дозе 30 мг/кг (производство – компания «Фармак», действующее вещество – итраконазол). Животные были распределены на подгруппы по половому признаку. Срок эксперимента составлял 30 дней. После декапитации под общим эфирным обезболиванием забирали лёгкие, которые фиксировали в 10% растворе формальдегида. Левое лёгкое заливали в парафин. Затем изготавливали гистологические срезы по общепринятым методикам с последующей их окраской гематоксилином и эозином [3]. Микроскопию проводили с помощью светового микроскопа Olympus CX-41, морфометрию — в программе «Olympus DP Soft». При исследовании определяли процентное содержание участков с неизменной паренхимой, эмфиземой, дистелектазами, кровоизлияниями. Процентное содержание исследуемых признаков определяли как отношение суммарной площади исследуемого признака к исследуемой общей площади, выраженное в процентах. Двухфакторный дисперсионный анализ выполнен с использованием демо-версий программного обеспечения Open Office и Statistica 10.0. С помощью полученных данных оценивали степень оказываемого влияния контролируемых факторов воздействия, половой принадлежности и их взаимодействия на структуру паренхимы лёгких крыс.

Соблюдение основных биоэтических норм при проведении исследования подтверждены заключением комитета по биоэтике КГМУ имени С.И. Георгиевского.

### Результаты и их обсуждение

Данные, полученные при проведении двухфакторного дисперсионного анализа изменений структуры морфометрии паренхимы лёгких при использовании итраконазола и КЦСЖ, представлены в таблице.

Таблица.  
Степень влияния факторов (в процентах) на показатели морфометрии по результатам двухфакторного дисперсионного анализа.

Показатель \ Фактор	Воздействие (плацебо - итраконазол+плацебо – итраконазол +КЦСЖ)	Половая принадлежность (самки-самцы)	Взаимодействие факторов (воздействие-половая принадлежность)
Неизменная паренхима, %	97,92	0,52*	83,82
Эмфизема, %	97,68	5,67*	89,58
Дистелектаз, %	95,11	88,19	94,45
Кровоизлияния, %	97,38	65,74	58,95

\* - незначимый показатель

На процентное содержание участков с неизменной паренхимой оказывают влияние контролируемый фактор воздействия на 97,92%, взаимодействие контролируемых факторов воздействия и половой принадлежности – на 83,82% (рисунок 1).

Контролируемый фактор воздействия оказывает влияние на процентное содержание участков эмфиземы на 97,68%, взаимодействие контролируемых факторов – на 89,58% (рисунок 2).

На результирующий признак процентное содержание участков дистелектазов оказывает контролируемый фактор воздействия на 95,11%, контролируемый фактор половой принадлежности – на 88,19%, при этом влияние взаимодействия было максимальным – 94,45% (рисунок 3).

При изучении влияния контролируемых факторов на процентное содержание участков с кровоизлияниями обнаружили, что контролируемый фактор воздействия оказывал влияние на 97,38%, контролируемый фактор половой принадлежности – на 65,74%, а их взаимодействие оказывало минимальный эффект – 58,95% (рисунок 4).

Проведённое исследование подтверждает предположение о том, что на все результирующие признаки морфометрии оказывает высокую степень влияния контролируемый фактор воздействия. Это позволяет предположить, что длительный приём высоких доз итраконазола оказывает прямое повреждающее влияние на паренхиму лёгких крыс линии Вистар, а также опосредованное повреждение, возникающее как следствие повреждения других органов и систем. Описано повреждающее действие итраконазола на печень [11], сердце [9], надпочечники [2]. Дополнительным повреждающим механизмом, действующим на паренхиму лёгких, может служить действие неконтролируемых факторов, способных повреждать паренхиму лёгких, но обезвреживаемых системой СУРЗА [14].

Другой контролируемый фактор воздействия — введение КЦСЖ крысам, получавшим итраконазол, также оказывал выраженное действие на показатели морфометрии лёгких. Это обусловлено коррегированием проявлений поражения надпочечников [6], а также воздействием на другие органы и системы [4].

Выявленные показатели степени влияния контролируемого фактора половой принадлежности демонстрируют, что изолированное воздействие данного фактора не оказывает влияния на наиболее весомые показатели морфометрии (неизменная паренхима, эмфизема), но влияют на наиболее динамичные показатели морфометрии (дистелектазы, кровоизлияния). Обнаруженные нами изменения подтверждают мнение о влиянии половой принадлежности на лёгкие в норме и при патологии [13].

В то же время выраженное влияние взаимодействия контролируемых факторов, приведшее к разнонаправленным изменениям показателей морфометрии лёгких, вероятно обусловлено тем, что введение КЦСЖ интактным животным вызывало снижение уровня эстрадиола у самок и тестостерона у самцов [1].

### Выводы

1. Контролируемый фактор воздействия (П – И+П – И+КЦСЖ) оказывает высокую степень влияния на все результирующие признаки морфометрии паренхимы лёгких крыс.

2. Контролируемый фактор половой принадлежности (самки-самцы) оказывал максимальную степень влияния на процентное содержание участков дистелектазов и не оказывал на процентное содержание участков неизменной паренхимы и эмфиземы.

3. Взаимодействие контролируемых факторов (воздействие и половая принадлежность) оказывает минимальную степень влияния на процентное содержание кровоизлияний и высокую степень на остальные показатели морфометрии лёгких крыс с максимальным влиянием на процентное содержание участков дистелектазов.

## Литература

1. Бессалова Е.Ю. Биологические эффекты цереброспинальной жидкости на репродуктивную систему крыс / Е.Ю. Бессалова, В.С. Пикалюк, В.А. Королёв // Журнал клинических экспериментальных медицинских исследований. – 2013. – Т. 1. – № 1. – С. 26-55.
2. Ершова О.Н. Фармакокоррекция гиперандренокортицизма у собак / О.Н. Ершова, Л.Ю. Карпенко // Екатеринбург : Ветеринарная клиника. – 2008. – № 12. – С. 15–16.
3. Коржевский В.Е. Основы гистологической техники / Коржевский В.Е., Гиляров А.В. – Санкт-Петербург : Изд. СпецЛит, 2010. – 95 с.
4. Ликвор как гуморальная среда организма / В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, В.В. Ткач (мл.) и др. – Симферополь : ИТ «Ариал», 2010. – 192 с.
5. Пат. Україна. UA 65154 МПК А61К 35/24 (2006.01), А61к 35/12 (2006.01) Спосіб отримання біологічного препарату ліквору : Пат. Україна. UA 65154 МПК А61К 35/24 (2006.01), А61к 35/12 (2006.01) В.С. Пикалюк, В.В. Ткач, М.А. Кривенцов, Л.Р. Шаймарданова, Є.Ю. Бессалова, В.В. Кисельов, Ю.П. Зайвий, А.О. Лесковський; ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського». – № u201106266; заявл. 19.05.2011, опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.
6. Пикалюк В.С. Корректирующий эффект ксеногенной цереброспинальной жидкости при её парентеральном введении белым крысам в условиях экспериментального гипокортицизма. / В.С. Пикалюк, В.В. Киселёв, Л.Р. Шаймарданова // Світ медицини та біології. – 2013. – № 2. – С. 71-74.
7. Aftab B.T. Itraconazole inhibits angiogenesis and tumor growth in non-small cell lung cancer / B.T. Aftab, I. Dobromilskaya, O. Liu Jun [et al.] // Cancer Res. – 2011. – № 71 (21). – P. 6764–6772. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0691. PMID: PMC3206167. NIHMSID: NIHMS323070.
8. Akira M. Drug-induced Pneumonitis: Thin-Section CT Findings in 60 Patients / M. Akira, H. Ishikawa, S. Yamamoto // Thoracic Imaging September. – 2002. – № 224 (3). – P. 274-286.
9. Okuyan H. Heart failure induced by itraconazole / H. Okuyan, C. Altın // Indian J Pharmacol. – 2013. – № 45(5). – P. 524–525. doi: 10.4103/0253-7613.117751. PMID: PMC3793528.
10. Pandya N.A. Role of itraconazole in haematology/oncology / N.A. Pandya, A.A. Atra, U. Riley [et al.] // Arch Dis Child. – 2003. – № 88. – P. 258–260.
11. Somchit N. Hepatotoxicity induced by antifungal drugs itraconazole and fluconazole in rats: a comparative in vivo study / N. Somchit, A.R. Norshahida, A.H. Hasiah [et al.] // Hum Exp Toxicol. – 2004. – № 23(11). – P. 519-25. PMID: 15625777.
12. Tobyn A.M. Residual pulmonary abnormalities in adult patients with chronic paracoccidioidomycosis: prolonged follow-up after itraconazole therapy / A.M. Tobyn, C.A. Agudelo, M.L. Osorio [et al.] // Clinical infectious diseases. – 2003. – № 37. – P. 898-904.
13. Townsend E.A. Sex Differences and Sex Steroids in Lung Health and Disease / E.A. Townsend, V.M. Miller, Y.S. Prakash // Endocr Rev. – 2012. – № 33(1). – P. 1-47. doi: 10.1210/er.2010-0031. PMID: PMC3365843.
14. Wijnen P.A. Relationship between drug-induced interstitial lung diseases and cytochrome P450 polymorphisms / P.A. Wijnen, O. Bekers, M. Drent // Curr Opin Pulm Med. – 2010. – № 16 (5). – P. 496–502. doi: 10.1097/MCP.0b013e32833c06f1. PMID: 20592596.

## Реферат

### АНАЛІЗ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПАРЕНХИМИ ЛЕГЕНЬ ПАЦЮКІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІТРАКОНАЗОЛУ ТА КСЕНОГЕННІЇ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ

Шатов Д.В., Григор'єв П.Є.

Ключові слова: паренхіма легень, морфометрія, цереброспинальна рідина, ітраконазол, корекція.

З метою визначення ступеня впливу контрольованих факторів (вплив, статеві принадлежності та їх взаємодія) на морфологічну структуру паренхіми легень пацюків лінії Вістар, які отримували ітраконазол та ксеногенну цереброспинальну рідину, проведено двохфакторний дисперсійний аналіз. Фактор впливу впливає на всі результуючі ознаки морфометрії легень пацюків. Контрольований фактор статевої приналежності має високу ступінь впливу на відсотковий вміст ділянок з дистелектазами та крововиливами, не впливаючи на інші показники морфометрії. Взаємодія факторів має максимальний вплив на відсотковий зміст крововиливів, мінімальний – на відсотковий показник дистелектазів.

## Summary

### ANALYSIS OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF LUNG PARENCHYMA IN RATS UNDER ADMINISTRATION OF ITRACONAZOLE AND XENOGENIC CEREBROSPINAL FLUID

Shatov D.V., Grigoriev P.Ye.

Keywords: lung parenchyma, morphometry, cerebrospinal fluid, itraconazole, correction.

In order to determine the impact of controllable factors (time of exposure, gender, and their interaction) on the morphological structure of the lung parenchyma of Wistar rats receiving itraconazole and xenogeneic cerebrospinal fluid, two-factor analysis of variance was carried out. Impact factor affects all the resulting symptoms of lung morphometry in rats. Controllable factor of sex assignment produced relatively high influence on the percentage of sites with dystelectases and haemorrhages, not affecting the other parameters of morphometry. The interaction of the factors has the greatest effect on the percentage of hemorrhages, and minimal one on the percentage of dystelectases.