

УДК 547.22 : 615.099 : 616.24-005.98

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ТОКСИЧЕСКОГО ОТЁКА ЛЁГКИХ ПРИ ИНГАЛЯЦИИ ПРОДУКТОВ ПИРОЛИЗА ХЛОРИРОВАННОГО ПАРАФИНА

П.Г. Толкач<sup>1</sup>, В.А. Башарин<sup>1</sup>,  
С.В. Ченур<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова  
МО РФ, 191044, г. Санкт-Петербург,  
Российская Федерация  
<sup>2</sup>ФГБУ Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ, 195043, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**В** проведенном исследовании на лабораторных животных (крысах) моделировали токсический отёк лёгких (ТОЛ) ингаляцией продуктов пиролиза хлорированного парафина-70 (ХП-70). Среднелетальная доза ХП-70, сжигаемого при температуре 280÷350°C в течение 3 мин, составляет 8,1±0,9 г и обеспечивает концентрацию хлороводорода (HCl) в камере на уровне 7325 [5850;8460] ppm. В данных условиях воздействие в течение 30 мин приводило к увеличению лёгочного коэффициента (ЛК) лабораторных животных через 24 ч после отравления. Диагноз ТОЛ подтверждали гистологически по признакам интерстициального и альвеолярного отёка, а также по артериальной гипоксемии (ИО = 204,5 [180; 228]), свидетельствующей о дыхательной недостаточности. Гибель животных регистрировали с 3 сут после аппликации продуктов пиролиза ХП-70. Созданная экспериментальная модель ТОЛ может быть использована для поиска средств патогенетической терапии отравлений пульмонотоксикантами.

**Ключевые слова:** хлорированный парафин, пиролиз, хлороводород, токсический отёк лёгких, лёгочный коэффициент.

**Введение.** В современном мире неуклонно растёт объём производства продукции из различных хлорсодержащих полимерных материалов, которая пользуется высоким спросом, что обусловлено её дешевизной, высокой стойкостью и прочностью. При пиролизе таких материалов, в окружающую среду выделяется большое количество разнообразных токсических веществ. Например, основной реакцией пиролиза ПВХ, при температуре 220°C, является дегидрохлорирование, при этом образовавшийся HCl составляет около 96÷99,2% среди газообразных продуктов горения [1]. Ингаляция образовавшегося на пожаре HCl в комбинации с другими продуктами горения может оказывать пульмонотоксическое действие и приводить к развитию у пострадавших острого респираторного дистресс-синдрома, который может проявляться в виде клинической картины ТОЛ [2]. В чрезвычайных ситуациях, сопровождающихся воздействием токсичных продуктов горения на организм человека, предотвратить гибель от ТОЛ может

только немедленная медицинская помощь, тем не менее, эффективных методов предупреждения и лечения ТОЛ до настоящего времени не разработано [3]. Для поиска средств терапии необходимы адекватные экспериментальные модели на лабораторных животных [4]. Наиболее часто в качестве модельных токсикантов для воспроизведения токсического отёка лёгких используют фосген и диоксид азота [3]. Тем не менее, в условиях пожара, основная доля веществ пульмонотоксического действия, образовавшихся в результате пиролиза современных хлорсодержащих полимерных материалов, приходится на HCl [1], в том числе в комбинации с другими токсичными продуктами. Поэтому для наиболее точного моделирования ТОЛ на животных необходимо комбинированное воздействие продуктов пиролиза хлорсодержащих полимерных материалов. В качестве материала для пиролиза может быть использован хлорированный парафин, используемый в качестве пластификатора и антипирена.

**Толкач Павел Геннадьевич (Tolkach Pavel Gennad'evich)**, кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, pgtolkach@gmail.com

**Башарин Вадим Александрович (Basharin Vadim Alexandrovich)**, доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, basharin@mail.ru

**Ченур Сергей Викторович (Chenur Sergej Viktorovich)**, доктор медицинских наук, профессор, начальник ФГБУ Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины МО РФ, svch-spb@mail.ru

*Цель нашего исследования* состояла в создании экспериментальной модели токсического отёка лёгких у лабораторных животных при интоксикации продуктами пиролиза хлорированного парафина.

**Материалы и методы исследования.** Экспериментальное исследование выполнено на лабораторных крысах-самцах. При проведении экспериментов выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных.

Статическую ингаляционную аппликацию токсикантов осуществляли в герметичной камере объёмом 0,1 м<sup>3</sup>. В качестве исходного материала для термической деструкции использовали парафин хлорированный марки Carbochlor 70, с массовым содержанием хлора – 71,3%. Термическое разложение ХП-70 проводили в камере для пиролиза при температуре 280÷350°C в течение 3 мин. Образовавшиеся продукты пиролиза ХП-70 посредством естественной конвекции поступали в ингаляционную камеру, в которую помещали лабораторных животных. Содержание HCl, фосгена, оксида углерода (CO), кислорода (O<sub>2</sub>) в ингаляционной камере определяли при помощи газоанализаторов Porta Sens II (США) и ДАХ-М (Россия). Время воздействия с момента начала пиролиза ХП-70 составляло 30 мин.

После окончания интоксикации крыс извлекали из ингаляционной камеры и дышали атмосферным воздухом. Наблюдение за животными осуществляли в течение 7 сут. Содержание карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных определяли спектрофотометрическим методом непосредственно после окончания интоксикации. Лёгочной коэффициент (ЛК) определяли у погибших и выведенных из эксперимента животных через 9, 24 ч, 2, 3 и 7 сут после аппликации токсикантов. На 3 сут после воздействия у лабораторных животных при помощи анализатора газов крови i-STAT Analyzer MN: 300-G (США) определяли парциальное давление кислорода в артериальной крови (PaO<sub>2</sub>), рассчитывали индекс оксигенации (ИО). На 3 сут после интоксикации у выведенных из эксперимента животных извлекали лёгкие для дальнейшего гистологического исследования. Препараты готовили по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование микропрепаратов проводили при помощи светооптического микроскопа МИКМЕД-6 («Аналит-Нева», Россия) при увеличении х 200. Статистический анализ результатов экспериментальных исследований проводили при помощи программы Statistica 10.0. Полученные данные, распределённые по закону отличного от нормального, анализировали при помощи непараметрического критерия Краскела-Уолиса

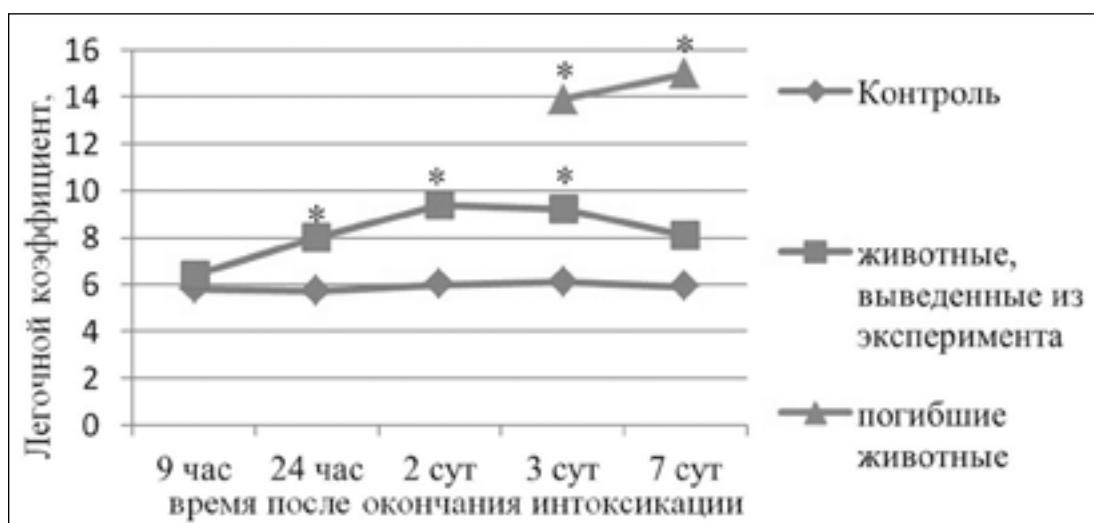
и критерия Ньюмана-Кейлса для множественных попарных сравнений. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Интенсивное термическое разложение ХП-70 начиналось при увеличении температуры в камере для пиролиза свыше 120°C и сопровождалось поступлением белого дыма в ингаляционную камеру. Концентрацию HCl в ингаляционной камере определяли каждые три минуты. Во всех проведённых экспериментах после окончания пиролиза отмечали линейную зависимость снижения содержания HCl в ингаляционной камере, поэтому для описания концентрации хлороводорода использовали его медианное значение. Содержание CO в ингаляционной камере не превышало 184 [170;200] ppm., фосген в ингаляционной камере обнаружен не был. При одновременном нахождении в ингаляционной камере пяти крыс концентрация кислорода в течение 30 мин воздействия снижалась не более чем на 0,7 %.

В качестве токсикометрического показателя использовали массу вещества (ХП-70), продукты термодеструкции которого приводили к 50 % гибели животных (LD<sub>50</sub> ХП-70). Было показано, что в данных условиях эксперимента LD<sub>50</sub> ХП-70 для крыс по критерию семисуточной выживаемости составляла 8,1±0,9 г, при этом концентрация HCl составляла 7325 [5850;8460] ppm. В дальнейших экспериментах использовали навеску ХП-70, соответствующую LD<sub>50</sub>.

После окончания пиролиза, во время интоксикации у животных отмечали снижение двигательной активности, обильное истечение жидкости из полости носа и рта, отёк век, блефароспазм, дыхание было редкое (ЧД = 31 [28;33] / мин), поверхностное, неравномерное. Содержание карбоксигемоглобина в крови крыс после извлечения из камеры составляло 28 [26;31] %. Во время наблюдения за животными отмечали снижение двигательной активности, уменьшение потребления воды и пищи. Дыхание было поверхностным, отмечены свистящие хрипы. Гибель животных регистрировали с 3 сут после окончания интоксикации.

Для количественной оценки отёка лёгких определяли содержание внесосудистой воды лёгких путём измерения ЛК. При анализе динамики ЛК было обнаружено бимодальное распределение признака у погибших животных и животных, выживших к 7 сут и затем выведенных из эксперимента. В связи с этим для интерпретации полученных результатов и их правильного статистического анализа было сформировано две подгруппы (ЛК у погибших животных и ЛК у животных, выведенных из эксперимента) (рис. 1).



**Рис.1.** Динамика легочного коэффициента у лабораторных животных в различные сроки после интоксикации продуктами пиролиза ХП-70.

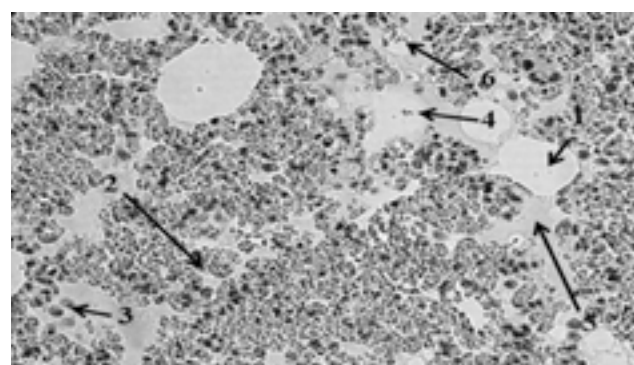
Примечание: - «\*» – различия значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), в каждой группе ( $n=5$ ).

На гистологических препаратах лёгких крыс, подвергшихся воздействию продуктов пиролиза ХП-70 (рис. 2) отмечали утолщение межальвеолярных перегородок, полнокровие капилляров. Полости альвеол были заполнены гомогенным эозинофильным трансудатом, содержащим альвеолярные макрофаги, эритроциты, десквамированный эпителий.

При анализе  $PaO_2$  у отравленных животных на 3 сут после интоксикации отмечали его снижение до 43 [38;48] мм рт.ст. (в контроле  $PaO_2$  – 80 [76;84] мм рт.ст.). Таким образом, индекс оксигенации ( $PaO_2/FiO_2$ ) составлял 204,5 [180; 228].

В проведённом исследовании была разработана экспериментальная модель ТОЛ у лабораторных животных при интоксикации продуктами пиролиза ХП-70. Хлорированный парафин был выбран в качестве модельного материала для пиролиза по двум причинам, во-первых он широко используется в качестве пластификатора и антипирена, во-вторых, он содержит до 70 % хлора, что позволяет получить высокий выход газообразного HCl при его нагревании более 120°C. При анализе пробы газовой смеси, полученной из ингаляционной камеры было обнаружено большое количество HCl (более 7000 ppm), незначительное количество CO. Содержание  $O_2$  в ингаляционной камере снижалось не более чем на 0,7%, что позволяет исключить развитие у лабораторных животных гипоксической гипоксии.

Хлороводород, попадая в дыхательные пути, взаимодействует с водой слизистых оболочек и превращается в соляную и хлорноватистую кислоты, что приводит к резкому изменению pH среды и денатурации макромолекул [5]. Хлорноватистая кислота образует в цитозоле кле-



**Рис. 2.** Лёгкое крысы на 3 сут после воздействия продуктов пиролиза ХП-70, окраска гематоксилином и эозином, х 200. 1. Полость альвеолы. 2. Полнокровный лёгочный сосуд. 3. Альвеолярный макрофаг. 4. Десквамированный эпителий в просвете альвеолы. 5. Трансудат в просвете альвеолы. 6. Выход эритроцитов в альвеолы.

ток хлорамины, имеющие достаточно высокую биологическую активность, может взаимодействовать с ненасыщенными связями фрагментов жирных кислот фосфолипидов и образовывать пероксиды, блокировать сульфгидрильные группы белков, активировать процессы образования свободных радикалов. Данные патогенетические механизмы приводят к развитию химического ожога дыхательных путей [6], повреждению альвеолярно-капиллярной мембраны и развитию ТОЛ [5, 7].

Количественно отёк измеряли по содержанию внесосудистой воде лёгких, содержание которой косвенно оценивали по величине легочного коэффициента. При увеличении внесосудистой воды лёгких более чем на 100 % происходит форми-

рование отёка лёгких [8]. В нашем исследовании повреждение лёгких у всех животных регистрировали уже через 24 часа после интоксикации, оно достигало максимума на 2 сут эксперимента. Повреждение сопровождалось артериальной гипоксемией (ИО = 204,5 [180; 228]). Тем не менее, артериальная гипоксемия, обусловленная нарушением диффузии кислорода через повреждённую АКМ не приводила к непосредственной гибели животных. Первые летальные исходы у животных развивались только с 3 сут после интоксикации. Вероятно, повреждение лёгких приводило к изменению метаболизма с активацией компенсаторных механизмов, достаточное функ-

ционирование которых способствовало выживанию части животных и снижению у них ЛК на 7 сут после интоксикации. У животных при срыве компенсаторных механизмов отмечали нарастающие повреждения лёгких, о чём свидетельствует повышение ЛК у погибших крыс.

**Заключение.** Таким образом, в результате проведённого исследования была создана экспериментальная модель токсического отёка лёгких у лабораторных животных при интоксикации продуктами пиролиза ХП-70, которая может быть использована для поиска средств патогенетической терапии данного патологического состояния.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мадорский С. Термическое разложение органических полимеров : пер. с англ. / под. ред. С.Р. Рафикова. - М.: Мир, 1967.
2. Полозова Е.В., Шилов В.В., Шлык И.В. Динамика морфологических изменений трахеобронхиального дерева у больных с острыми отравлениями угарным газом, осложненными термическим поражением дыхательных путей. Медицина труда и промышленная экология. 2015; (2): 12-5.
3. Торкунов П.А., Шабанов П.Д. Токсический отёк лёгких: патогенез, моделирование, методология изучения. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2009; 6 (2): 3-54.
4. Чепур С.В., Быков В.Н., Юдин М.А., Никифоров А.С., Фатеев И.В., Арутюнян А.А. Особенности экспериментального моделирования соматических и неврологических заболеваний для оценки эффективности лекарственных препаратов. Биомедицина. 2012; 1 (1): 16-8.
5. White C.V., Martin J.G. Chlorine gas inhalation: human clinical evidence of toxicity an experience in animal. Proceeding of the American thoracic society. 2010; 7 (4): 257-63.
6. De Lange D.W., Meulenbelt J. Do corticosteroids have a role in preventing or reducing acute toxic lung injury caused by inhalation of chemical agents? Clinical Toxicology. 2011; 49: 61-71.
7. Alarie Y. Toxicity of fire smoke. Critical review toxicology. 2002; 32 (4): 259-89.
8. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н. Отёк лёгких: классификация, механизмы развития, диагностика. Общая реаниматология. 2009; 1: 83-8.

## REFERENCES:

1. Madorskij S. The thermal decomposition of organic polymers : per. s. angl. / pod. red. S.R. Rafikova. - M.:Mir. 19(in Russian).
2. Polozova E.V., Shilov V.V., Shlyk I.V. Dynamics of morphological changes of the three-archonchial tree in patients with acute carbon monoxide poisoning with an especial thermal injury of the respiratory tract. Medicina truda i promyshlennaya ekologiya. 2015; (2): 12-(in Russian).
3. Torkunov P.A., Shabanov P.D. Pulmonary edema: pathogenesis, modeling, methodology for studying // Obzory po klincheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii. 2009; 6 (2): 3-(in Russian).
4. Chepur S.V., Bykov V.N., Yudin M.A., Nikiforov A.S., Fateev I.V., Arutyunyan A.A. The features of experimental modeling of somatic and neurological diseases for evaluation of the effectiveness of drugs // Biomedicine. 2012; 1 (1): 16-(in Russian).
5. White C.V., Martin J.G. Chlorine gas inhalation: human clinical evidence of toxicity an experience in animal. Proceeding of the American thoracic society. 2010; 7 (4): 257-63.
6. De Lange D.W., Meulenbelt J. Do corticosteroids have a role in preventing or reducing acute toxic lung injury caused by inhalation of chemical agents? Clinical Toxicology. 2011; 49: 61-71.
7. Alarie Y. Toxicity of fire smoke. Critical review toxicology. 2002; 32 (4): 259-89.
8. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N. Pulmonary edema: klassifikation, mechanism of development, diagnosis // Obshchaya reanimatologiya. 2009; 1: 83-(in Russian).

P.G. Tolkach<sup>1</sup>, V.A. Basharin<sup>1</sup>, S.V. Chepur<sup>2</sup>

## TOXIC PULMONARY EDEMA BY INHALATION OF PYROLYSIS PRODUCTS OF CHLORINATED PARAFFIN-70 IN RATS

<sup>1</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy, RF Ministry of Defense, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>State Scientific Research Institute of the Military Medicine, 195043, Saint-Petersburg, Russian Federation

In the study conducted on laboratory animals (rats) toxic pulmonary edema (TPE) was simulated by inhalation of pyrolysis products of chlorinated paraffin-70 (CP-70). The average-lethal dose of CP-70 burned at 280 ÷ 350 °C for 3 minutes is 8.1 ± 0.9 g and provides a concentration of hydrogen chloride (HCl) in the chamber at the level of 7325 [5850; 8460] ppm. Under these conditions exposure for 30 minutes led to an increase in the pulmonary rate (LC) in laboratory animals 24 hours after poisoning. The diagnosis of TPE was confirmed histologically by the signs of interstitial and alveolar edema, as well as arterial hypoxemia (TI = 204.5 [180; 228]) indicating respiratory failure. The death of animals was recorded 3 days after application of the pyrolysis products of CP-70. The simulated experimental TPE model can be used to search for the means of pathogenetic therapy of pulmonary toxicants poisoning.

**Keywords:** chlorinated paraffin, pyrolysis, hydrogen chloride, toxic pulmonary edema, pulmonary rate.

Материал поступил в редакцию 22.06.2018 г.