

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»
(ФГБУН ИТ ФМБА России)

На правах рукописи

КОЛБАСОВ
Кирилл Сергеевич

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ИНГАЛЯЦИОННОГО
ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ПОРАЖЕНИЯХ, ВЫЗВАННЫХ
ПУЛЬМОНОТОКСИКАНТАМИ

14.03.04 — токсикология

14.03.06 — фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук
Е.Ю. Бонитенко
доктор медицинских наук
В.А. Кашуро

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

2016

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ ПО ТОКСИЧНОСТИ И СПОСОБАМ ЛЕЧЕНИЯ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПУЛЬМОНОТОКСИКАНТАМИ	15
1.1. Физико-химические свойства и характеристика пульмонотоксикантов	15
1.1.1. Аммиак	15
1.1.2. Хлор	22
1.1.3. Фосген	27
1.2. Патогенез и клиническая картина отравлений пульмонотоксикантами	28
1.2.1. Отравление аммиаком	28
1.2.2. Отравление хлором	29
1.2.3. Отравление фосгеном	35
1.3. Патогенез токсического отёка лёгких	37
1.4. Лечение отравлений пульмонотоксикантами	40
1.4.1. Аммиак	40
1.4.2. Хлор	42
1.4.3. Фосген	49
1.5. Возможные отдалённые последствия острых отравлений пульмонотоксикантами	53
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	55
2.1. Животные (тест-система) и их содержание	55
2.2. Материалы и методы при разработке экспериментальных моделей острых ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном	56
2.3. Материалы и методы при разработке экспериментальной модели хронических неспецифических заболеваний лёгких	58
2.4. Материалы и методы оценки эффективности лекарственных препаратов	59
2.5. Материалы и методы изучения безопасности препарата «Сальбуфен»	63

2.5.1. Наблюдение за животными	63
2.5.2. Перечень регистрируемых показателей	63
2.5.3. Гематологические исследования	67
2.5.4. Биохимические исследования сыворотки крови	68
2.5.5. Определение показателей свёртывающей системы крови	69
2.5.6. Исследование мочи	69
2.5.7. Физиологические исследования	70
2.5.8. Изучение возможного местнораздражающего действия	72
2.5.9. Патоморфологические исследования	72
2.6. Материалы и методы при разработке практических рекомендаций и проекта инструкции	73
2.7. Методы статистического анализа	75
2.7.1. Сравнение средних по t-критерию Стьюдента	75
2.7.2. Использование методов дисперсионного анализа	75
ГЛАВА 3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРЫХ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	77
3.1. Моделирование аммиачного отёка лёгких в экспериментах на мышах	78
3.2. Моделирование аммиачного отёка лёгких в экспериментах на крысах	78
3.3. Моделирование затравки фосгеном в опытах на крысах	78
3.4. Моделирование отёка лёгких при затравке мышей хлором	81
3.5. Моделирование отёка лёгких при затравке крыс хлором	81
3.6. Моделирование хронических неспецифических заболеваний лёгких	82
ГЛАВА 4. ОТБОР ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ОЦЕНКА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ПРИ МОНОТЕРАПИИ И СОЧЕТАННОМ ЛЕЧЕБНОМ ПРИМЕНЕНИИ	84
4.1. Отбор для экспериментального изучения фармакологических антагонистов хлора, аммиака и фосгена	84
4.1.1. Фармакологические свойства отобранных препаратов	84

4.2. Оценка эффективности выбранных лекарственных средств при монотерапии	92
4.2.1. Аммиачный отёк лёгких	92
4.2.2. Интоксикация крыс хлором	95
4.2.3. Токсический отёк лёгких, вызванный фосгеном	97
4.2.4. Эффективность профилактического применения отобранных лекарственных препаратов при поражении аммиаком	101
4.3. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов	107
4.3.1. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении аммиаком	107
4.3.2. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении хлором	111
4.3.3. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении фосгеном	114
ГЛАВА 5. ОБОСНОВАНИЕ РЕЦЕПТУРЫ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «САЛЬБУФЕН»	117
5.1. Результаты экспериментальной оценки специфической эффективности лекарственной формы препарата «Сальбуфен» при ингаляционных поражениях хлором, аммиаком, фосгеном и при моделировании хронических заболеваний лёгких	121
5.1.1. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при аммиачном отёке лёгких	121
5.1.2. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при тяжёлой интоксикации крыс хлором	122
5.1.3. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при токсическом отёке лёгких, вызванном фосгеном	123
5.1.4. Оценка эффективности препарата «Сальбуфен» при экспериментальных хронических неспецифических заболеваниях лёгких	126

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА «САЛЬБУФЕН»	129
6.1. Результаты, полученные при изучении острой токсичности комплексного аэрозольного препарата при ингаляционном введении грызунам	129
6.1.1. Экспериментальная программа (протокол исследования)	129
6.1.2. Токсикометрия	130
6.1.3. Данные вскрытия (некропсии)	135
6.2. Результаты, полученные при изучении субхронической токсичности комплексного аэрозольного препарата при ингаляционном введении грызунам	141
6.2.1. Экспериментальная программа (протокол исследования)	141
6.2.2. Влияние на выживаемость и массу тела	142
6.2.3. Влияние на потребление корма и воды	144
6.2.4. Влияние на ректальную температуру	145
6.2.5. Влияние на сердечно-сосудистую деятельность	147
6.2.6. Влияние на двигательную и исследовательскую активность	149
6.2.7. Влияние на параметры функционального состояния почек	153
6.2.8. Влияние на показатели периферической крови	158
6.2.9. Данные патоморфологического исследования	164
6.2.10. Результаты гистологического исследования	169
6.3. Результаты, полученные при изучении местнораздражающего действия модельного образца лекарственной формы комплексного аэрозольного препарата в опытах на грызунах	171
6.3.1. Конъюнктивальная проба	171
6.3.2. Патоморфологическое исследование	172
6.4. Расчёт индекса безопасности препарата «Сальбуфен» при клиническом применении	173
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	174
ВЫВОДЫ	177
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	180

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	181
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	184
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Проект инструкции по медицинскому применению препарата «Сальбуфен»	196
ПРИЛОЖЕНИЕ 2 Стандарты оказания помощи пораженным аммиаком и хлором	204

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Аварии на промышленных объектах и техногенные катастрофы сопровождаются выбросом в окружающую среду высокотоксичных пульмонотоксикантов. Имея большую площадь поверхности, лёгкие постоянно подвергаются воздействию ксенобиотиков, которые во множестве содержатся во вдыхаемом воздухе. При высоком уровне воздействия формируется токсический процесс, тяжесть которого колеблется в широких пределах — от незначительных явлений раздражения (транзиторная токсическая реакция) до тяжелейших расстройств со стороны многих органов и систем (интоксикация).

Пульмонотоксиканты — это химические вещества, вызывающие бронхоспазм и повреждение альвеолярно-капиллярной мембраны. Поражения дыхательной системы пульмонотоксикантами актуальны при авариях на промышленных предприятиях. В тоже время, пульмонотоксиканты способны вызывать массовые ингаляционные поражения персонала химически опасных объектов и населения при чрезвычайных ситуациях (ЧС) химической природы. Поражения дыхательной системы пульмонотоксикантами отличаются значительной тяжестью и высокой летальностью.

Наибольшую опасность в силу либо высокой токсичности, либо масштабности использования в хозяйственной деятельности представляют химические соединения следующих групп:

- галогены (хлор, фтор);
- ангидриды кислот (оксиды азота, оксиды серы);
- аммиак;
- галогенпроизводные угольной кислоты (фосген, дифосген);
- галогенированные нитроалканы (хлорпикрин, тетрахлординитроэтан);
- галогенфториды (трёхфтористый хлор);
- галогенсульфиды (пятифтористая сера);
- галогенпроизводные непредельных углеводородов (перфторизобутилен);

- изоцианаты (метилизотиоцианат).

Помимо явления раздражения острые поражения пульмоноксикантами сопровождаются формированием ряда патологических процессов, среди которых основными являются токсический отёк лёгких и воспаление дыхательных путей и паренхимы лёгких.

Участок действия вдыхаемых газов и паров определяется степенью их растворимости в тонком слое жидкости, выстилающей слизистую дыхательных путей и альвеолярный эпителий. Хорошо растворимые в воде вещества (хлор, аммиак, диоксид серы) преимущественно осаждаются в верхнем отделе дыхательных путей, и именно здесь реализуется их основной токсический эффект, а нижележащие отделы поражаются лишь при очень высоких концентрациях. Напротив, плохо растворимые в воде вещества (фосген, дифосген, перфторизобутилен) поражают в основном глубокие отделы респираторного тракта. Другими словами, чем хуже растворим газ в воде, тем выше его потенциал поражения паренхимы лёгких.

Действие пульмоноксикантов на дыхательные пути сопровождается:

- функциональными нарушениями вследствие раздражения нервных окончаний обонятельного, тройничного и языкоглоточного нервов (рефлекс Кречмера), блуждающего нерва (рефлекс Салема-Авиано) [Куценко С.А., 2004];

- развитием воспалительно-некротических изменений в дыхательных путях, выраженность которых определяется свойствами токсикантов и их концентрацией во вдыхаемом воздухе [Куценко С.А., Преображенская Т.Н., 2008].

При этом поражаются как верхние, так и нижние отделы дыхательных путей и паренхима лёгких. Развивающийся бронхообтурационный синдром, гипергидратация и отёк лёгких, а также токсическая пневмония требуют проведения быстрых и эффективных лечебных мероприятий.

Несмотря на исследования, проводимые в этой области, проблема лечения токсического отёка лёгких остается весьма актуальной. Это связано с тем, что при массовых отравлениях такими широко распространенными в промышленности соединениями, как хлор, аммиак, фосген, окислы азота, ряд кислот (хорошо

известных сильнодействующих ядовитых веществ), развитие токсического отёка лёгких определяет тяжесть и прогноз интоксикации.

Наиболее перспективным в пульмонологии является применение лекарственных препаратов в ингаляционной форме, позволяющее доставлять препарат непосредственно к органу-мишени, минуя органы детоксикации и места неспецифического связывания.

В арсенале врачей в настоящее время отсутствует комплексный препарат для быстрого купирования бронхообтурационного синдрома, вызванного пульмонотоксикантами. Поэтому имеется потребность в разработке комплексного препарата, который может быть быстро использован медицинским персоналом для оказания помощи пострадавшим.

Степень разработанности темы диссертационного исследования

В доступной нам отечественной и зарубежной литературе исследования по экспериментальному моделированию ингаляционных поражений пульмонотоксикантами встречаются в ограниченном количестве. Практически отсутствуют экспериментальные работы по изучению поражений дыхательной системы у животных с острым отравлением пульмонотоксикантами и последующим медикаментозным лечением. Весьма ограничены данные по доклиническим исследованиям лекарственных препаратов как средств быстрого купирования бронхообтурационного синдрома и восстановления нарушенных функций, как при монотерапии, так и их сочетанном применении. Всё указанное позволило сформулировать цель и задачи настоящей работы.

Цель исследования

Цель — на основе экспериментального исследования эффективности различных лекарственных средств обосновать оптимальный состав рецептуры комплексного аэрозольного препарата для лечения поражений дыхательной системы пульмонотоксикантами.

Для достижения поставленной цели определены следующие задачи:

- разработать экспериментальные модели острых ингаляционных поражений аммиаком, хлором, фосгеном и модель хронических неспецифических заболеваний лёгких (ХНЗЛ) для изучения эффективности лекарственных средств;
- на основе анализа механизмов действия исследуемых пульмонотоксикантов произвести отбор лекарственных средств, перспективных для включения в состав рецептуры комплексного ингаляционного препарата и провести скрининговые исследования их эффективности на моделях ингаляционных поражений;
- оценить эффективность сочетанного применения наиболее активных лекарственных средств для терапии поражений пульмонотоксикантами на разработанных моделях ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном;
- экспериментально обосновать оптимальный состав рецептуры комплексного аэрозольного препарата и провести доклинические испытания его эффективности и безопасности.

Научная новизна исследования

Научная новизна работы заключается в экспериментальном обосновании нового комплексного препарата для ингаляционного применения, сочетающего в себе бронхолитические, спазмолитические, местноанестезирующие и антиоксидантные свойства, и его применения для лечения поражений дыхательной системы пульмонотоксикантами.

Практическая и теоретическая значимость работы

1. В ходе работы разработаны экспериментальные модели острых ингаляционных поражений пульмонотоксикантами.

2. С помощью разработанных моделей определены критерии оценки фармакологического действия исследуемых препаратов при поражениях

основными пульмонотоксикантами с различным патогенезом токсического действия.

3. В результате работы разработан состав и испытан экспериментальный образец комплексного аэрозольного препарата для лечения поражений дыхательной системы, вызванных пульмонотоксикантами, при ингаляционном его применении.

4. В ходе выполнения работы представлены материалы по изучению эффективности и безопасности нового комплексного препарата.

5. Разработан проект инструкции по медицинскому применению нового комплексного аэрозольного препарата (Приложение 1).

Методология и методы исследования

Методология исследования состояла в моделировании и валидации острых ингаляционных поражений пульмонотоксикантами и ХНЗЛ с обоснованием состава рецептуры нового препарата по ключевым показателям состояния основных систем организма, а также изучении его безопасности в соответствии с ГОСТ Р 53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики [ГОСТ Р 53434-2009, 2009]. Исследования выполнены в соответствии с соблюдением всех правил доказательной медицины.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработку комплексного лекарственного средства при поражениях, вызванных пульмонотоксикантами, целесообразно проводить на основе β_2 -адреномиметиков, кортикостероидов, спазмолитиков и Н-холинолитиков, направленных на купирование основные патогенетических синдромов интоксикации.

2. Сочетанное ингаляционное применение β_2 -адреномиметика сальбутамола и Н-холинолитика педифена оказывает лечебное действие при тяжелых поражениях пульмонотоксикантами, не уступающее по выраженности эффекта сочетанию парентерального введения преднизолона с эуфиллином и сочетанию

парентерального введения преднизолона с ингаляционным применением салбутамола.

3. Препарат «Сальбуфен», представляющий собой дозированный спрей, состоящий из салбутамола в концентрации 1 мг/мл и педифена в концентрации 2,5 мг/мл, при ингаляционном применении повышает выживаемость экспериментальных животных при смертельных поражениях хлором, аммиаком и фосгеном, снижает величину весового коэффициента лёгких, снижает степень лёгочной гидратации, уменьшает проявления бронхообструкции за счёт повышения антиоксидантных резервов лёгких и активности лёгочного сурфактанта. При лечебно-профилактическом применении препарат «Сальбуфен» предупреждает развитие и облегчает течение экспериментальных ХНЗЛ у крыс.

4. По показателям острой токсичности комплексный препарат «Сальбуфен» относится к IV классу малотоксичных лекарственных веществ, по показателю безопасности лекарственных препаратов для клинического применения относится к III классу малотоксичных (малоопасных) лекарственных препаратов.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности определяется достаточным количеством экспериментальных животных, использованных в исследовании, рандомизацией и формированием групп сравнения и контроля, адекватными поведенческими, токсикологическими и фармакологическими моделями и методами исследования, длительными сроками наблюдения и корректными методами статистической обработки.

Результаты проведённых исследований доложены и обсуждены на Российской научной конференции с международным участием «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии» (Санкт-Петербург, 2011); Всероссийской научной конференции молодых учёных «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2013); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально

обусловленных заболеваний» (Сочи, 2013), IV съезде токсикологов России с международным участием (Москва, 2013); II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2014); Межотраслевой научно-практической конференции «Кораблестроение в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы» («ВОКОР-2014») (Санкт-Петербург, 2014); Научно-практической конференции «Безопасность химических предприятий. Медицинские и гигиенические проблемы» (Волгоград, 2015); III Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2015).

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 2 — в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Материалы диссертации вошли в методические рекомендации ФМБА России «Использование лекарственных средств, имеющихся в аптечной сети, для лечения ингаляционных поражений АХОВ из группы пульмонотоксикантов» (Издание официальное. ©Федеральное медико-биологическое агентство, МР ФМБА России 12.51.12-2012. – Москва, 2012).

Личный вклад автора

Автором проведён сбор и анализ научной литературы по токсичности и способам лечения ингаляционных поражений пульмонотоксикантами, сформулированы цель и задачи исследований, определены объекты и объём работы, проведён отбор и скрининговые исследования препаратов для терапии поражений пульмонотоксикантами, а также обоснование оптимального состава рецептуры, предложен проект инструкции по медицинскому применению нового комплексного препарата (Приложение 1). Проведён основной эксперимент по моделированию ингаляционных поражений пульмонотоксикантами, а также их медикаментозной коррекции у белых крыс при монотерапии и сочетанном применении лекарственных препаратов. Оценена эффективность и токсичность

нового комплексного аэрозольного препарата. Выполнено формирование базы данных и осуществлена обработка полученных результатов, проведено их обобщение и обсуждение, выполнено оформление диссертации, подготовлены публикации по теме диссертации. Доля участия автора в получении и накоплении результатов — 90-95%, в статистической обработке — 100%.

Связь темы диссертации с плановой тематикой научно-исследовательской работы учреждения

Работа выполнена в соответствии с задачами плановых научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» в рамках государственного задания по теме шифр «Ингаляция» и Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)» [Постановление Правительства Российской Федерации от 27.10.2008 г. №791, 2008] по теме шифр «Дыхание».

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 195 страницах печатного текста, включает 49 таблиц, 13 рисунков и 2 приложения. Состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка литературы, включающего 127 источников (111 — на русском языке и 16 — на иностранных языках).

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ ПО ТОКСИЧНОСТИ И СПОСОБАМ ЛЕЧЕНИЯ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПУЛЬМОНОТОКСИКАНТАМИ

Современный период развития мирового сообщества характеризуется глобализацией химической опасности. Вклад экологической компоненты в ухудшение здоровья взрослого и детского населения составляет, по мнению экспертов ВОЗ, 20-25% и 30-40% соответственно [Гильмундинов В.М., 2009; Баранов А.А. и др., 2010]. Вследствие интенсификации производства постоянно увеличивается выброс загрязняющих веществ в окружающую среду, увеличивается распространенность и выраженность экологически обусловленной патологии, возрастает риск производственных аварий на химически опасных объектах.

1.1. Физико-химические свойства и характеристика пульмонотоксикантов

1.1.1. Аммиак

Аммиак — бесцветный газ намного легче воздуха, кипит при $-33,4^{\circ}\text{C}$, а затвердевает при $-77,8^{\circ}\text{C}$. Среди других газов аммиак выделяется чрезвычайно высокой растворимостью в воде: при 0°C в одном объеме воды растворяется 1200 объемов аммиака, а при 20°C — 700 объемов [Глинка Н.Л., 2005]. Поэтому даже слабые водные растворы аммиака имеют отчетливый резкий запах, а при хранении в неплотно закупоренной посуде они довольно быстро выдыхаются, ибо аммиак так же легко и выходит из воды. Полностью же удалить из воды этот газ можно непродолжительным кипячением.

При нормальных условиях 0°C и 0,1 МПа (1 кгс/см^2) это бесцветный газ с резким характерным запахом и едким вкусом, в 1,7 раза легче воздуха (плотность $0,6017 \text{ кг/м}^3$) [Глинка Н.Л., 2005]. В сосудах под давлением аммиак разделен на две фазы — жидкую и газообразную, находящиеся между собой в равновесии при

температуре и давлении ниже критических. При температуре $+132,4^{\circ}\text{C}$ и избыточном давлении 11,2 МПа ($111,5 \text{ кгс/см}^2$) равновесие между жидкой и газообразной фазами нарушается. Температура и давление, соответствующие точке нарушения фазового равновесия, называются критическими. Жидкий аммиак при испарении вызывает сильное охлаждение, поэтому его используют в холодильных установках. Жидкий аммиак вызывает сильные ожоги кожи, поэтому его обычно перевозят в стальных баллонах (окрашены в жёлтый цвет, имеют надпись «Аммиак» чёрного цвета), железнодорожных и автомобильных цистернах, по воде — в специальных танкерах, транспортируют также по трубопроводам. Водный раствор аммиака называется нашатырным спиртом или аммиачной водой.

Резкий запах этого газа знаком человеку с незапамятных времен: в значительных количествах аммиак выделяется в процессе гниения при разложении животных и растительных белков. Но чистый аммиак впервые был получен лишь в 1772-1774 гг. английским химиком Джозефом Пристли, который назвал его «щелочным воздухом». В 1784 г. французский химик Клод Бертолле с помощью электрического разряда разложил аммиак на элементы и таким образом определил его химический состав. А в 1901 г. французский химик Анри Ле Шателье впервые сумел его синтезировать.

В газообразном состоянии аммиак — бесцветный газ с резким удушливым запахом. Смесь аммиака с воздухом взрывоопасна. Аммиак горит при наличии постоянного источника огня. Ёмкости могут взрываться при нагревании. Газообразный аммиак является токсичным соединением. При его концентрации в воздухе рабочей зоны около 350 мг/м^3 и выше работа должна быть прекращена, а люди выведены за пределы опасной зоны. Предельно допустимая концентрация аммиака в воздухе рабочей зоны равна 20 мг/м^3 [Жиляев Е.Г., Гончаров С.Ф., Янушевский А.К., 1994].

- ПДК в атмосферном воздухе (среднесуточная/максимальная разовая) — $0,04/0,2 \text{ мг/м}^3$.

- ПДК в воздухе рабочей зоны — 20 мг/м^3 .

- ПДК в воде — 2 мг/л.
- ПК — 10 мг/м³.
- Токсодоза пороговая — 5,0 мг · мин/л.
- Токсодоза поражающая — 15,0 мг · мин/л.
- Токсодоза смертельная — 150,0 мг · мин/л.

Аммиак — один из самых важных продуктов химической промышленности.

Большая часть получаемого в промышленности аммиака идет на приготовление азотной кислоты, азотных удобрений, красителей. Применяется аммиак и для получения взрывчатых веществ. Широко используются водные растворы аммиака. Как слабое летучее основание, он применяется в химических лабораториях и производствах.

В медицине 10% водный раствор аммиака известен как нашатырный спирт. Резкий запах аммиака раздражает специфические рецепторы слизистой оболочки носа и способствует возбуждению дыхательного и сосудодвигательного центров, поэтому при обморочных состояниях или алкогольном отравлении пострадавшему дают вдыхать пары нашатырного спирта.

25% раствор аммиака широко используется в быту, в частности для стирки шерсти, удаления старой масляной краски, лака, пятен от масел, жиров, смолы, молока, кофе, плесени, а также для мытья крашеных полов, дверей и оконных рам, фарфоровой посуды и т.д. А в различных отраслях промышленности применяется 28-29% технический водный раствор аммиака.

За последние десятилетия зарегистрированы десятки техногенных катастроф, связанных с транспортировкой или технологическим применением аммиака (таблица 1).

Таблица 1 – Сведения об авариях и техногенных катастрофах, связанных с транспортировкой или технологическим применением аммиака с 1999 года по 2014 год

Дата	Описание аварии
1	2
12.1999	В Калининградской области в приграничном с Литвой городе Советске на целлюлозно-бумажном комбинате произошла авария, в результате которой из резервуаров на почву вытекло более 100 тонн аммиачной воды [http://lenta.ru/russia/1999/12/08/sovetsk]
04.2000	На станции Семенов Горьковской железной дороги от одной из цистерн поезда №2335 обнаружен резкий аммиачный запах. Цистерна с жидким аммиаком поступила с химкомбината г. Кирово-Чепецка и предназначалась для Прибалтики. Железнодорожники, приняв меры предосторожности, направили состав с аммиачной цистерной на запасной путь станции Каликино Борского района. В результате аварийной утечки аммиака госпитализирован один сотрудник Горьковской железной дороги с отравлением дыхательных путей средней тяжести [http://kop.nnov.ru/public/ecoMonth/2000/04/05_02_08.html]
05.2000	В Черкасской области Украины в результате железнодорожной аварии из двух вагонов-цистерн вылилось около 100 тонн аммиачной воды [http://lenta.ru/world/2000/05/21/ammiak]
04.2001	На холодильной установке в колбасном цехе ОАО «Поиск» в Томске произошёл взрыв ёмкости с аммиаком. В момент взрыва в цехе находились 40 человек, шестеро из них получили ранения [http://lenta.ru/russia/2001/04/19/kolbasa]

Продолжение таблицы 1

1	2
04.2004	В Москве на Мосхлагокомбинате номер 14, в результате взрыва возникла сильная утечка аммиака, и вспыхнул пожар. Тогда пострадали 3 человека [http://ria.ru/incidents/20040426/577826.html]
09.2005	Произошёл аварийный выброс аммиака на Калининградском мясокомбинате [http://ria.ru/incidents/20050906/41316861.html ; http://palm.newsru.com/russia/06sep2005/ammiak.html]
07.2006	Аварийный выброс аммиака произошёл в г. Корсакове Сахалинской области. На территории предприятия «Корсаковский рыбоконсервный завод» при замене сальника на вентиле трубопровода, соединяющего ёмкость для хранения аммиака с компрессором, произошёл выброс аммиака в объёме до 70 кг. В результате выброса пострадало 3 человека [http://ria.ru/incidents/20060712/51225355.html]
01.2007	На северо-востоке Москвы три человека пострадали в результате утечки аммиака. На территории завода железобетонных конструкций обнаружены 20 баллонов с аммиаком. Из баллона, в котором еще находился аммиак, произошла утечка, и образовалось небольшое аммиачное облако [http://lenta.ru/news/2007/01/14/chp1]
02.2007	В Дзержинске Нижегородской области произошёл выброс аммиака из теплообменника в цехе этанол-амин ООО «Синтез-Ока». Утечка произошла в результате разгерметизации фланцевого соединения аппарата Т-12, предназначенного для испарения аммиака [http://www.ecoindustry.ru/news/view/13236.html]
05.2007	На Микояновском мясокомбинате в Москве из-за повреждения трубопровода произошла утечка аммиака, в результате которой один человек погиб и двое госпитализированы в Институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского с ожогами внешних дыхательных путей [http://www.newsru.com/russia/03may2007/avaria.html]

Продолжение таблицы 1

1	2
01.2008	В результате разгерметизации фланцевого соединения на трубопроводе газообразного аммиака на складе аммиака ОАО «Дзержинское Оргстекло» произошёл выброс газа в атмосферу. В пресс-службе отметили, что произошёл выброс не более 150 кг аммиака. На момент аварии в ёмкости находилось 30 тонн газообразного аммиака, в трубопроводе — 500 кг [http://www.e-plastic.ru/news/avariya-na-oao-dzerzhinskoe-orgsteklo_861.htm]
06.2008	В результате утечки аммиака на Балаковском мясокомбинате в Саратовской области погибли два человека. В здании компрессорной из-за гидравлического удара произошёл выброс 600 кг аммиака. Погибли два машиниста холодильной установки [http://www.kommersant.ru/doc/1027396]
09.2008	На «Петербургском молочном комбинате» произошёл выброс аммиака, в результате которого погиб один человек и 15 пострадали. Как сообщила пресс-служба городского управления МЧС, выброс аммиака на севере Санкт-Петербурга произошёл на территории предприятия «Вимм-Билль-Данн» [http://www.kommersant.ru/doc/1027396]
06.2009	Пять человек пострадали при выбросе аммиака на судне во Владивостоке [https://news.mail.ru/inregions/fareast/25/incident/2630954]
03.2012	Произошла авария с выбросом аммиака в самарском цехе по рафинированию масла. 2 человека погибли, 7 госпитализированы [http://www.azov.info/new/10702]

Продолжение таблицы 1

1	2
08.2013	В результате аварии на заводе Стирол в городе Горловка Донецкой области пять человек погибли и 22 доставлены в больницы. На территории завода по производству аммиака, при проведении капитального ремонта цеха №1, на эстакаде произошла разгерметизация трубы (диаметр 150 мм, рабочее давление 12 атм.) с жидким аммиаком, с последующим выбросом аммиака в воздух [http://news.bigmir.net/ukraine/736957]
05.2014	Возле города Яготин Киевской области вследствие ДТП произошёл разлив 4,5 тонн аммиачной воды, сообщает пресс-служба ГосЧС в Киевской области. Водитель автомобиля госпитализирован в реанимационное отделение Яготинской центральной районной больницы с диагнозом «отравление парами аммиака» [http://news.bigmir.net/ukraine/819604]

1.1.2. Хлор

Хлор — газ жёлто-зелёного цвета, с резким запахом, негорючий. Применяется для обеззараживания воды и в некоторых отраслях народного хозяйства. На свету при высокой температуре взаимодействует с водородом (взрыв). При этом образуется фосген. Плотность по воздуху — 2,5; на воздухе с водяными парами образует белый туман.

При нормальных условиях хлор представляет собой газ зеленовато-желтого цвета с резким раздражающим запахом. В сжиженном состоянии хлор может находиться только при избыточном давлении или при температуре ниже $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$. Хранится и транспортируется жидкий хлор в сосудах, выдерживающих избыточное давление. Давление насыщенных паров хлора в сосуде зависит от температуры и с её повышением увеличивается. Плотность жидкого хлора при температуре кипения ($-34\text{ }^{\circ}\text{C}$) составляет 1560 кг/м^3 . При испарении одного объёма жидкого хлора при $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ образуется 457 объёмов газообразного хлора. Газообразный хлор тяжелее воздуха в 2,5 раза, поэтому при аварийных утечках он стелется по низу, создавая устойчивое газовое облако. Плотность хлор-газа при $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давлении $101,3\text{ кПа}$ равна $3,21\text{ кг/м}^3$.

- ПК — $0,9\text{--}8,7\text{ мг/м}^3$.
- ПДК в воздухе рабочей зоны — $1,0\text{ мг/м}^3$.
- ПДК в атмосферном воздухе — (среднесуточная/максимальная разовая — $0,03/0,1\text{ мг}^3$).
- Токсодоза пороговая — $0,3\text{ мг} \cdot \text{мин/л}$.
- Токсодоза поражающая — $0,6\text{ мг} \cdot \text{мин/л}$.
- Токсодоза смертельная — $6,0\text{ мг} \cdot \text{мин/л}$ [Берлянд М.Е. и др., 1991].

За последние десятилетия произошли десятки техногенных катастроф, связанных с транспортировкой или технологическим применением хлора (таблица 2).

Таблица 2 – Сведения об авариях и техногенных катастрофах, связанных с транспортировкой или технологическим применением хлора с 2000 года по 2013 год

Дата	Описание аварии
1	2
08.2000	Утечка хлора из баллона ёмкостью 50 литров была обнаружена на севере Москвы на территории геолого-разведывательного предприятия, расположенного на улице Беломорская в среду, 16 августа, в полдень. Пострадали 4 человека [http://lenta.ru/russia/2000/08/16/chlor]
10.2000	В результате аварии на лакокрасочном заводе в пригороде бельгийского города Гент от отравления хлором погибли двое рабочих [http://lenta.ru/world/2000/10/23/chlor]
01.2001	В среду, 10 января, на мастерском участке водоснабжения станции «Хабаровск-1» Дальневосточной железной дороги произошёл выброс 50 килограммов хлора, сообщает «Интерфакс». Причиной выброса послужила разгерметизация баллона в результате нарушения технологического процесса [http://lenta.ru/russia/2001/01/10/chlor]
03.2001	В четверг утром на продуктопроводе Кемеровского химического комбината «Химпром» произошла утечка хлора. В атмосферу попало не менее 150 килограммов вещества, сообщает ИТАР-ТАСС. Двое работников комбината получили отравление парами хлора и были доставлены в токсикологическое отделение местной больницы [http://lenta.ru/russia/2001/03/15/chlor]
05.2001	Семь человек отравились парами хлора в городе Усоль-Сибирское Иркутской области. Как сообщили РИА «Новости» в правоохранительных органах области, это произошло в четверг, 24 мая, вечером. В этот день на территории АО «Химпром» у цеха №5001 произошёл разрыв трубы с жидким хлором [http://lenta.ru/russia/2001/05/25/chlor]

Продолжение таблицы 2

1	2
08.2002	На чешском химическом комбинате Spolana Neratovice в пятницу произошёл новый выброс ядовитого хлора, сообщает СТКNews. Утечка произошла в результате разрыва трубопровода в новом хранилище комбината. По словам представителя Spolana Neratovice Яна Мартинека (Jan Martinek) трубопровод был поврежден во время чистки. В городе Нератовице (Neratovice), расположенном всего в 30 километрах от Праги, и его окрестностях была объявлена третья, высшая степень химической опасности [http://lenta.ru/world/2002/08/24/chlorine]
12.2003	На целлюлозном заводе Усть-Илимского лесопромышленного комплекса произошла утечка хлора, сообщает РИА «Новости». Из-за неисправности вентиля на трубопроводе произошёл выброс нескольких десятков литров хлора. Образовалось облако объёмом около 500 кубометров. Погиб 1 человек [http://lenta.ru/russia/2003/12/11/chlorine]
04.2004	В городе Чонджин в Китае 17 апреля произошла серия взрывов на местном Тяньюаньском химическом заводе. Взорвались по меньшей мере семь баков с жидким хлором, что уже привело к гибели 9 человек. В результате аварии в воздух попало большое количество ядовитого газа, из-за чего местные власти были вынуждены приступить к эвакуации близлежащих жилых домов в радиусе трёх километров — число эвакуируемых составляет около 150 тысяч человек, сообщает CNN со ссылкой на агентство «Синьхуа» [http://lenta.ru/world/2004/04/17/chinese]
08.2004	В Санкт-Петербурге в среду на научно-производственном объединении «Кварц», расположенном по адресу Пискаревский проспект, 63, произошла утечка хлора, сообщает агентство «Росбалт». По данным спасателей, утечка произошла через вентиль находящейся на территории предприятия ёмкости с хлором объёмом 250 литров [http://lenta.ru/russia/2004/08/11/chlor]

Продолжение таблицы 2

1	2
08.2005	В городе Одинцово Московской области на территории производственной площадки фирмы «Заготконтора» произошёл взрыв ёмкости с хлором, сообщает РИА «Новости». Происшествие случилось 4 августа около 14:30 по московскому времени. Выброс хлора произошёл из баллона, который был сдан в качестве металлолома. В результате аварии 25 рабочих получили отравления и были госпитализированы [http://lenta.ru/news/2005/08/04/chlorine]
07.2006	На северо-западе Китая 164 человека отравились в результате утечки хлора на химическом заводе, передает агентство «Синьхуа». Инцидент произошёл около 21 часа воскресенья по местному времени на химзаводе Синэртэ в городе Иньчуань [http://lenta.ru/news/2006/07/10/clorine]
10.2007	Около 50 человек пострадали в результате выброса хлора, произошедшего 5 октября на одном из химических предприятий во Франкфурте-на-Майне, передает агентство Reuters. Один из сотрудников получил серьезные химические ожоги [http://lenta.ru/news/2007/10/05/chlor]
06.2008	В польском городе Познань произошла утечка хлора. 500-литровая бочка с химикатами лопнула в центре города, в атмосферу попало около 300 литров хлора, сообщает РИА Новости со ссылкой на радиостанцию RMF FM. В результате инцидента пострадали пять человек: три полицейских и два спасателя, принимавших участие в операции по ликвидации последствий утечки хлора [http://lenta.ru/news/2008/06/06/chlorine]
12.2008	4 декабря на одном из крупнейших в Иркутской области химических заводов «Усольхимпром» произошёл выброс хлора, сообщает агентство РИА Новости со ссылкой на представителя регионального МЧС. В результате аварийной остановки компрессора в цехе диафрагменного электролиза в атмосферу попало около 30 килограммов ядовитого вещества [http://lenta.ru/news/2008/12/04/chlorine/]

Продолжение таблицы 2

1	2
07.2010	Количество пострадавших в результате отравления хлором в индийском городе Мумбаи достигло 92 человек, сообщает Associated Press. Состояние восьмерых из них оценивается как критическое. По имеющимся данным, отравление произошло в результате утечки ядовитого газа из ёмкости, которая была оставлена на складе металлолома возле порта в одном из пригородов Мумбаи [http://lenta.ru/news/2010/07/14/chlorine1]
07.2012	Авария произошла в ночь на 4 июля на территории компании «Кристалл» в пригороде Тбилиси из-за разгерметизации 800-литровой цистерны с хлором. В результате пострадали 73 человека, среди которых были женщины, в том числе одна беременная, и 20 детей. Позже произошла повторная утечка газа, при попытке перевезти цистерну в безопасное место, из-за чего хлором также отравились несколько спасателей. 11 июля один из пострадавших скончался [http://lenta.ru/news/2012/07/11/die]
11.2012	14 ноября около 16:00 по местному времени (14:00 по Москве) в результате выброса хлора на химико-металлургическом заводе «Ависма» в городе Березники Пермского края погибли три человека. Причиной аварии стала разгерметизация резервуара с хлором в отделении хлорирования [http://lenta.ru/news/2012/11/14/avisma]
03.2013	Утечка хлора произошла 1 марта 2013 года на химпредприятии «Сода-хлорат» в Березниках Пермского края. К медикам обратились 30 рабочих, 27 из них госпитализированы. Есть информация, что один из рабочих — в реанимации, передают «Вести». Выход хлора на наружной установке синтеза произошёл в цехе номер 13 по производству жидкого хлора предприятия «Сода-хлорат». По предварительным данным, выброс хлора произошел из-за нарушения технологического процесса на производстве [http://zavtra.ru/content/view/vyibros-hlora-2013-3-1/]

1.1.3. Фосген

Фосген, дихлорангидрид угольной кислоты, COCl_2 , бесцветный газ с запахом прелого сена; $t_{\text{кип}} 8,2^\circ\text{C}$, $t_{\text{пл}} -118^\circ\text{C}$; плотность паров по отношению к воздуху 3,5; плохо растворяется в воде, хорошо — в органических растворителях. Газообразный фосген медленно гидролизует влагой воздуха, в воде — сравнительно быстро; со спиртами (ROH) образует хлоркарбонаты (ClCOOR) и карбонаты (ROCOOR), с солями карбоновых кислот — ангидриды соответствующих кислот, с окислами металлов — галогениды последних (например, AlCl_3), с аммиаком — главным образом мочевины и NH_4Cl , с аминами — арил (алкил)-замещенные мочевины $\text{CO}(\text{NHR}'')_2$ и изоцианаты. Образование нерастворимой в воде дифенилмочевины ($\text{R}''=\text{C}_6\text{H}_5$) может служить методом качественного и количественного определения фосгена. С диалкиланилинами фосген образует производные ди- и трифенилметанового ряда. Приведённые выше и ряд других реакций фосгена используются для промышленного получения растворителей, красителей, фармацевтических препаратов, поликарбонатов и др.

Получен в 1811 г. Дж. Дэви (Англия). Во время Первой мировой войны с мая 1915 г. применялся Германией в смеси с хлором [Болдырев В.Н., 1917].

Физические свойства:

- бесцветный газ с запахом прелого сена или гнилых яблок;
- плотность по воздуху 3,48;
- плохо растворим в воде, в органических растворителях растворим хорошо;
- температура кипения $8,2^\circ\text{C}$;
- давление насыщенного пара при 20°C — 1178 мм рт.ст.;
- температура плавления -118°C .

Предельно допустимая концентрация (ПДК) фосгена в воздухе рабочей зоны производственных помещений — $0,5 \text{ мг/м}^3$. Порог обонятельного ощущения $4,4 \text{ мг/м}^3$. Концентрация 5 мг/м^3 при экспозиции 10 минут считается минимально опасной. В 50% случаев при вдыхании 100 мг/м^3 в течение одного часа, 300 мг/м^3

в течение 15 минут, 400 мг/м³ в течение 5 минут, а 5000 мг/м³ в течение 2-3 секунд наступает смерть [Козлитин А.М., Яковлев Б.Н., 2000].

1.2. Патогенез и клиническая картина отравлений пульмонотоксикантами

1.2.1. Отравление аммиаком

Аммиак весьма токсичен. При повышении концентрации (до 0,05 мг/л) появляются признаки его раздражающего действия на слизистые оболочки глаз и дыхательных путей, так как, относясь к едким щелочам, этот газ растворяется в выделяемой ими влаге. При этом возможна даже рефлекторная задержка дыхания. Ещё более высокие концентрации аммиака в воздухе приводят к химическим ожогам глаз и дыхательных путей и опасны для жизни. Такие ингаляционные отравления происходят при авариях на промышленных предприятиях, где используются технические растворы аммиака, а также при его перевозках.

Человек способен почувствовать характерный запах аммиака в воздухе уже в довольно малой и еще не опасной для здоровья концентрации — 0,0005 мг/л. При вдыхании этого газа сразу же появляется неприятное ощущение першения в горле, сухой кашель, удушье. Высокие концентрации аммиака вызывают головную боль, тошноту, рвоту. Через 1-2 часа наступает период кратковременного улучшения, но через 4-6 часов возобновляется сухой надсадный кашель, вновь появляется одышка и чувство удушья. Кроме того, внешние признаки ингаляционного отравления аммиаком могут быть и весьма необычными. Так, у пострадавших иногда настолько снижается слуховой порог, что даже не очень громкий звук становится для них невыносим и может вызвать судороги. Часто отмечается и сильное возбуждение, вплоть до буйного бреда. Аммиак способен поражать жизненно важные центры, и последствия отравления им могут быть весьма тяжёлыми — до снижения интеллекта и изменения личности.

При остром отравлении аммиаком поражаются глаза и дыхательные пути, при высоких концентрациях возможен смертельный исход. Вызывает сильный

кашель, удушье, при высокой концентрации паров — возбуждение, бред. При контакте с кожей — жгучая боль, отёк, ожог с пузырями. При хронических отравлениях наблюдаются расстройство пищеварения, воспаление верхних дыхательных путей, ослабление слуха.

Аммиак обладает раздражающим и прижигающим действием.

При действии низких концентраций вызывает конъюнктивит, ринит, головную боль, боли в груди, потливость. При воздействии высоких концентраций — химический ожог конъюнктивы и роговицы, ожог слизистых оболочек верхних дыхательных путей, ларингоспазм, токсический бронхит, через час может развиваться токсический отёк лёгких.

При попадании на кожу аммиака развивается химический ожог I-II степени с колликвационным некрозом.

1.2.2. Отравление хлором

Раздражающий эффект отмечается при превышении концентрации хлора в воздухе — 3 мг/м^3 , в воде — 100 мг/л . Токсический эффект хлора зависит от концентрации и времени воздействия. Так, концентрация 100 мг/м^3 опасна для жизни при воздействии в течение часа, а концентрация 3 г/м^3 приводит к гибели при 5-минутном воздействии [Варенин С.А., Поделякин Н.А., 1992; Подлесный А.М., Аникеев В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Хорошо растворяясь в воде и тканевых жидкостях, хлор, прежде всего, поражает слизистые оболочки верхних дыхательных путей, трахеи, бронхов [Альберт А., 1989]. При воздействии высоких концентраций и длительной экспозиции поражаются и нижние отделы дыхательных путей. Интенсивное раздражение рецепторного поля дыхательных путей вызывает рефлекторную реакцию со стороны гладкой мускулатуры трахеи, бронхов, а также дыхательного и сосудодвигательного центров. В начальной фазе поражения хлором симптомы рефлекторной реакции всегда сопутствуют или преобладают в клинической картине. При ингаляционном поражении очень высокими концентрациями смерть может наступить при первых вдохах заражённого воздуха в результате

рефлекторной остановки дыхания. К быстрой гибели также может привести химический ожог лёгких. Токсическое действие хлора на эпителиальные клетки дыхательных путей, альвеолы и эндотелий капилляров лёгких можно связать с проявлением его окислительных свойств. Помимо этого, хлор нарушает ферментативные реакции в тканях, инактивирует ферменты оксидантной защиты и выводит из-под контроля свободнорадикальные процессы, изменяет структуру и свойства биологических мембран. Таким образом, с одной стороны, хлор инициирует свободнорадикальные процессы в поврежденных им тканях, а с другой — блокирует ферменты антиоксидантной системы. В первую очередь поражается эпителий верхних дыхательных путей, а затем эпителиальная выстилка альвеол. Эпителий набухает, дегенерирует, что приводит к его некрозу и полному угнетению мукоцилиарного клиренса. Известно также избирательное действие хлора на пневмоциты 2-го типа, приводящее к снижению, а то и полному прекращению секреции сурфактанта. Повреждение сурфактантной системы влечёт за собой развитие массивного ателектаза. В нормальных условиях оксидазная система пневмоцитов 2-го типа обеспечивает защиту сурфактантной системы и самих клеток от химических агентов и свободных радикалов кислорода. Но воздействие хлора и продуктов его гидролиза, являющихся сильными окислителями, разрушает эту защиту [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Разрушение пневмоцитов 1-го типа приводит к повышению проницаемости альвеолярной стенки для воды, макромолекул и форменных элементов крови. Содержащийся в отёчной жидкости фибрин включается в процесс разрушения сурфактанта [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Параллельно отмечаются нарушение кровообращения в толще слизистой оболочки дыхательных путей и диффузное повреждение эндотелия лёгочных капилляров. Это приводит к изменению проницаемости эндотелиальной мембраны. В результате чего перемещение плазмы через стенку капилляра

происходит патологическими путями через поврежденный эндотелий. [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Повышение уровня оксидантов, продуктов метаболизма разрушенных эндотелиальных клеток лёгочных капилляров, прогрессирующая гипоксия инициируют деструкцию тучных клеток, что сопровождается массивным выбросом биологически активных веществ — гистамина, ацетилхолина, серотонина, брадикинина, гепарина и т.д. Следствием этого процесса является развитие резкой гиповолемии, когда объём циркулирующей крови (ОЦК) снижается вследствие вазомоторного паралича и расширения сосудистого русла. Другими следствиями выброса биологически активных веществ являются нарушение проницаемости различных мембран и развитие интерстициальных отёков, прежде всего в лёгких и мозге. В результате перехода жидкости в интерстиций происходит сгущение крови и ещё больше снижается ОЦК. В конце концов, массивный выброс биологически активных веществ потенцирует уже имеющиеся бронхиолоспазм и ларингоспазм. На фоне интерстициального отёка лёгких и накопления в них мокроты всё это провоцирует экспираторное закрытие дыхательных путей. Связанные с этим гипоксия, метаболический и респираторный ацидоз ещё больше увеличивают проницаемость мембран, и тем самым усиливают интерстициальный отёк [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Поступление в кровяное русло из поражённых тканей биологически активных веществ провоцирует сильный выброс катехоламинов надпочечниками (гормоны агрессии — адреналин и допамин). Эта реакция осуществляется воздействием биологически активных веществ как непосредственно на надпочечники, так и опосредованно через таламус. Данная первичная реакция возбуждения, предназначенная для усиления деятельности жизненно важных органов за счёт менее важных органов и тканей, действует кратковременно в связи с быстрым разрушением катехоламинов. Однако нарушение функционального состояние и массовая гибель клеток лёгочной ткани сопровождаются угнетением метаболизма биологически активных веществ, в

частности катехоламинов, что является причиной нарушения гемодинамики в малом круге кровообращения — скорость кровотока снижается, нарастает давление в малом круге. Уменьшение лёгочного кровотока, обусловленное спазмом капилляров лёгких, приводит к изменению реологических свойств крови, развитию её рассеянного внутрисосудистого свёртывания. Агрегация тромбоцитов в спазмированных и поврежденных сосудах ведёт к образованию «тромбоцитарных пробок». Так как процесс идёт генерализовано и вызывающие его факторы не ликвидированы, наступает быстрое истощение свёртывающей, антикоагулянтной и фибринолитической систем [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Определенная роль в нарушении проницаемости и разрушении альвеолярно-капиллярной мембраны отводится и нейтрофилам. Их скопление в капиллярах и альвеолах создает локальные очаги избытка оксидантов, с помощью которых в норме оказывается антимикробная функция нейтрофилов [Курляндский Б.А., Филов В.А., 2002; Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

По мере реализации вышеперечисленных механизмов начинается и прогрессирует интерстициальный, а затем и альвеолярный отёк лёгких.

Жидкость, поступающая в интерстиций, вначале перемещается в более рыхлые ткани, окружающие бронхи и сосуды, образуя водяные муфты вокруг воздухоносных путей. Этот процесс в сочетании с бронхоспазмом, отёком и воспалением дыхательных путей, утратой или снижением эластичности бронхиол приводит к закрытию части дыхательных путей не только при максимальном выдохе, но и при спокойном дыхании. Выключение из газообмена части альвеол усугубляет гипоксию. Развитие процессов ателектазирования, обтурации капилляров лёгких микроэмболами ведёт к сбросу неоксигенированной крови по артериовенозным анастомозам. Внутрилёгочное шунтирование крови ещё больше усугубляет гипоксию [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

После того как возможности накопления жидкости в интерстициальном пространстве и возможности лимфатического дренажа исчерпываются, а тканевое давление превышает критический уровень, жидкость прорывается в альвеолы. Начинается фаза альвеолярного отёка лёгких.

В этот период лёгочная ткань представляет собой сложную мозаику из воздушных, ателектазированных и отёчных альвеол. Отёчная жидкость с остатками эритроцитов, фибрином, белковыми фракциями впоследствии приводит к образованию плотной плёнки на внутренней поверхности альвеол (гиалиновая мембрана). В дальнейшем мембрана подвергается лизису или организации. Вымывание сурфактанта способствует вспениванию отёчной жидкости, что значительно затрудняет функцию внешнего дыхания [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Для хлора и других легкорастворимых ядов (хлорпикрин, аммиак и т.д.) наиболее характерно поражение слизистой оболочки трахеи и крупных бронхов. Это, как правило, сочетается с явлениями конъюнктивита и раздражения слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Только при воздействии больших концентраций или при длительном контакте наблюдается поражение более мелких бронхов, бронхиол, альвеол. Наиболее часто острые отравления такими веществами проявляются в виде острого ларинготрахеита и острого токсического бронхита. В более тяжёлых случаях эти проявления острого отравления перерастают в острую токсическую пневмонию и токсический отёк лёгких [Голиков С.Н., Бадюгин И.О., 1980; Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Быстро прогрессирующая дыхательная недостаточность, как правило, является следствием развивающегося острого токсического отёка лёгких, который протекает гораздо тяжелее, чем отёк лёгких другой этиологии.

Как уже было сказано, в развитии токсического отёка лёгких выделяют несколько стадий: рефлекторную, скрытую, стадию выраженных клинических проявлений, стадию обратного развития.

Симптоматика рефлекторной стадии связана с местным прижигающим действием хлора и химическим раздражением окончаний блуждающего нерва в паренхиме лёгких. В скрытом периоде после выхода из заражённой атмосферы отмечается некоторое улучшение состояния, однако при поражении хлором полной ремиссии не происходит. Сохраняются кашель, болезненные ощущения по ходу трахеи и в области диафрагмы. Через некоторое время (от нескольких часов до нескольких дней) состояние поражённого снова ухудшается, развивается стадия выраженных клинических проявлений токсического отёка лёгких. Усиливается кашель и одышка, лицо приобретает синюшную (синий тип гипоксии), а в крайне тяжёлых случаях пепельную окраску (серый тип гипоксии). Выслушиваются множественные влажные мелкопузырчатые хрипы над всей поверхностью лёгких, дыхание становится kloкочущим, начинает обильно отделяться пенистая желтоватая или красноватая мокрота. Замедляется пульс, падает артериальное давление. Поражённый человек теряет сознание и умирает при явлениях острой дыхательной недостаточности. Если отёк лёгких не приводит к смерти, через несколько часов состояние постепенно начинает улучшаться, рассасывается отёчная жидкость, и заболевание переходит в стадию обратного развития [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Токсический отёк лёгких, включая все стадии, в среднем длится 4-8 часов, однако в отдельных случаях может продолжаться до суток. Известны также случаи быстрого обратного развития и быстрого улучшения состояния пострадавшего.

Обычно, поражённые хлором, не умершие в течение суток после воздействия, выживают. Явления бронхита и пневмонии наблюдаются в течение еще нескольких недель, а лёгочная эмфизема оказывается стойким последствием интоксикации. Часто регистрируется длительное нарушение сердечной деятельности [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Воздействие хлора в малых дозах в производственных условиях может вызывать хроническое отравление в виде воспаления или атрофии слизистой оболочки дыхательных путей, что в свою очередь приводит к развитию ХНЗЛ.

1.2.3. Отравление фосгеном

Клинические формы поражений, степень тяжести их проявлений зависят от токсических концентраций фосгена и дифосгена, а также от ингаляционной токсодозы [Петров И.Р., 1967]. Так, в интервале ингаляционных доз 0,05-0,5 мг · мин/л возникают лёгкие формы поражения, которые проявляются в форме токсических воспалений верхних дыхательных путей и кератоконъюнктивитов; при токсических концентрациях от 0,5 до 3 мг · мин/л возникают поражения средней тяжести, которые диагностируются как первичная токсическая бронхопневмония. При воздействии более высоких концентраций (3-10 мг · мин/л) возникает тяжёлая форма поражения — токсический отёк лёгких. Концентрации на порядок выше (10-100 мг · мин/л) вызывают тяжелейший ожог лёгочной ткани. Сверхвысокие концентрации могут вызвать смерть от рефлекторного спазма голосовой щели. Поражение фосгеном и дифосгеном, приводящее к развитию токсического отёка лёгких, при отсутствии первой врачебной и квалифицированной медицинской помощи заканчивается смертельным исходом в течение 2-3 дней.

Ожог лёгочной ткани и рефлекторное удушье следует рассматривать как крайне тяжёлую степень поражения. Однако прогностически указанные два состояния отличаются друг от друга. При ожоге ткань лёгких становится ломкой, сухой. Она полностью теряет свои функциональные свойства. При рефлекторном спазме лёгкие могут сохранить свою функцию, если пострадавшему своевременно надеть противогаз, вынести его из заражённой атмосферы и произвести искусственное дыхание.

Как и при поражениях аммиаком и хлором, в течении токсического отёка лёгких выделяют следующие периоды: начальный (рефлекторный); скрытый;

формирование и развитие отёка лёгких; декада осложнений; выздоровление [Кулагин В.К., 1976].

Начальный период имеет продолжительность, равную времени пребывания в загазованной атмосфере. Характерными признаками поражения в этом периоде являются слёзотечение, слюнотечение, кашель, чихание, блефароспазм, бронхоспазм, тошнота, рвота, учащённое дыхание, брадикардия. После выхода из загазованной атмосферы возникает чувство облегчения, что неверно оценивается как признак выздоровления и благополучия. Продолжительность скрытого периода в среднем равна 2-4 часа, но не более одних суток. Если в течение первых суток токсический отёк лёгких не проявил себя, то в более поздний период его не будет. В целях своевременного оказания первой врачебной и квалифицированной медицинской помощи важно выявить в периоде скрытого действия микросимптомы, которые указывают на угрозу развития токсического отёка лёгких.

В зависимости от индивидуальной реактивности и ингаляционной токсодозы фосгена отёк лёгких может протекать с повышенным или пониженным содержанием CO_2 в крови. Для обоих случаев характерна выраженная гемоконцентрация: гематокритное число достигает значения 60 и более. Гиперкапническая форма отёка лёгких имеет внешнюю картину синей гипоксии. Содержание O_2 в артериальной крови достигает 80-85% (объёмных). В этом периоде можно отметить признаки эмфиземы: коробочный звук при перкуссии лёгких, опущение нижних границ лёгких до седьмого межреберья по среднеключичной линии, исчезновение зоны абсолютной сердечной тупости. К этому следует добавить такие признаки, как извращение вкусовых ощущений (отвращение к табаку), запах прелого сена (запах фосгена) от волос и одежды пострадавшего.

При гипокапнической форме отёка лёгких образуется так называемое лицо Гиппократова: черты лица больного заостряются, лоб покрывается липким потом, ткани приобретают пепельно-серый или землистый цвет. Содержание CO_2 в артериальной крови падает до 30% (объёмных) и ниже. АД очень низкое или не

определяется, пульс прерывистый, плохого наполнения. Дыхание поверхностное, периодическое. Пенистая мокрота окрашена кровью. Через 1-2 дня происходит разрешение отёка лёгких. Однако переход отёка во вторичную токсическую пневмонию является типичным осложнением. В связи с усилением функции свёртывающей системы крови нередко возникают тромбозы вен. Период выздоровления длится не менее 2 недель.

1.3. Патогенез токсического отёка лёгких

Патогенез токсических поражений органов дыхания представляет собой, прежде всего, проблему молекулярно-мембранной патологии [Вайль С.С., 1958]. Как известно, лёгкие имеют мембранную поверхность толщиной от 0,3 до 2 мкм с общей площадью более 100 м². Из этой мембранной плёнки образованы более 7 млн альвеол, опутанных густой капиллярной сетью. Стенки лёгочных артериол, капилляров и венул представляют собой идеальную мембрану, полупроницаемую в норме для газов и непроницаемую для воды. На функционирование альвеолярно-капиллярной мембраны оказывают влияние ряд факторов: гидростатическое давление капилляров, гидростатическое давление интерстиция, внутриартериальное давление, плевральное давление, давление за счет поверхностно-активных веществ, коллоидно-осмотическое давление капилляров, коллоидно-осмотическое давление интерстиция, давление лимфооттока. Хотя гидростатическое давление крови способствует движению жидкости в просвет лёгочных альвеол, в нормальных условиях этого не происходит, так как в ткани межалвеолярных перегородок осмотическое давление уравнивает гидростатическое давление крови. Согласно положениям термодинамики водно-липидных систем, объёмный поток жидкости VQ через полупроницаемую мембрану прямо пропорционален разности гидростатического и осмотического давления в тканях.

В нормальных условиях жидкость не проходит через мембрану, так как гидростатическое давление крови равно осмотическому давлению лёгочной ткани.

При токсическом отёке лёгких под влиянием нервно-рефлекторных механизмов возрастает гидростатическое давление крови. В лёгочной ткани происходят биохимические изменения, которые полупроницаемую сосудистую мембрану превращают в проницаемую. Нейроэндокринные факторы оказывают существенное влияние на коллоидно-осмотические свойства лёгочной ткани. В результате осмотическое давление в межальвеолярных перегородках становится союзником гидростатического давления крови, обеспечивающего поток жидкости в направлении от кровеносного русла к лёгочной ткани.

Впервые в опытах А.В. Тонких и В.Д. Белогорского (1944, 1964) выявлена пусковая роль нервно-рефлекторных механизмов в патогенезе токсического отёка лёгких. У кошек атравматично перерезались шейные симпатические узлы. Последующая затравка животных в камере с дифосгеном показала, что у таких животных по сравнению с контрольными (неоперированными) не возникает токсический отёк лёгких. Следовательно, симпатические нервы несут к лёгким (эфферентно) чрезвычайную импульсацию, которая вызывает развитие патологического процесса [Прохоров И.И., Новоселецкий В.А., Ивашин В.М., 2011].

Афферентным звеном рефлекторной дуги являются рецепторы блуждающего нерва в нижнем отделе дыхательных путей, которые подвергаются прямому воздействию паров фосгена или дифосгена, достигая центра блуждающего нерва, возбуждение иррадирует на гипоталамус, на высшие центры симпатической регуляции. Выброс катехоламинов в лёгочные сосуды увеличивает гидростатическое давление крови, нарушает трофические процессы в лёгочной ткани, что подтверждается экспериментально. Внутривенное введение животным избыточного количества адреналина вызывает развитие отёка лёгких.

Помимо нервно-рефлекторных механизмов, пусковую роль способны сыграть и местные биохимические изменения в лёгочной ткани, возникающие под воздействием фосгена. Пары фосгена образуют комплекс с поверхностно активным фосфолипидным веществом сурфактантом, предупреждающим слипание лёгочных альвеол. Этот своеобразный гаптен раздражает рецепторы

тучных клеток Эрлиха в лёгочной ткани, что приводит к активизации фосфодиэстеразы и уменьшению запасов циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в тучных клетках. Клетки Эрлиха начинают испытывать энергетический голод. Они перестают удерживать в себе запасы гистамина, серотонина и других активных веществ. Их освобождение активирует гиалуронидазу лёгочной ткани, под влиянием которой возникает диссоциация кальциевой соли гиалуроновой кислоты — основного вещества соединительнотканной стенки лёгочного сосуда [Прохоров И.И., Новоселецкий В.А., Ивашин В.М., 2011]. Сосудистая мембрана из полупроницаемой становится проницаемой. В лёгочную ткань устремляются из крови вещества, богатые энергией. В тучных клетках Эрлиха восстанавливается содержание цАМФ. Энергетический голод устраняется ценой повреждения сосудистой мембраны и развития отёка лёгких.

На фоне патологических изменений в лёгочной ткани, возникающих под влиянием адренергических и гистаминергических реакций, формируется своеобразный метаболический хвост, усиливающий осмотические нарушения. В его формировании участвуют два нейроэндокринных рефлекса: антинатрийурический, приводящий к выделению альдостерона, и антидиуретический, связанный с избыточной продукцией антидиуретического гормона (вазопрессина). Альдостерон способствует накоплению ионов натрия в лёгочной ткани. Антидиуретический гормон путём задержки мочеотделения благоприятствует накоплению жидкости в лёгочной ткани. Кроме того, антидиуретический гормон усиливает гидростатическое давление крови в лёгочных сосудах. Относительная масса лёгких увеличивается в несколько раз. Если в норме лёгочный коэффициент равен 6-8 то при токсическом отёке лёгких он достигает значений 20-40. При этом правая половина сердца заполнена сгустками крови. То же самое можно обнаружить при вскрытии крупных сосудов малого круга.

Действие раздражающих газов на слизистую оболочку дыхательных путей зависит от их растворимости в воде или липидах. Газы с повышенной растворимостью в воде (аммиак, хлор) оседают на слизистых оболочках верхних

дыхательных путей, вызывая раздражающее действие. В случае вдыхания больших концентраций развивается токсический отёк лёгких. Вещества, имеющие тропность к липидам (фосген, окислы азота) осаждаются преимущественно в альвеолах, растворяясь в сурфактанте и повреждая эндотелий капилляров лёгких.

В клинике токсического отёка лёгких выделяют 4 стадии:

1. Рефлекторная стадия начинается с момента попадания в заражённую атмосферу и длится 15-20 минут после выхода из неё.

2. Скрытая стадия (стадия мнимого благополучия) длится от 1-2 до 24 часов. При высокой концентрации скрытого периода может не быть.

3. Стадия клинических проявлений токсического отёка лёгких начинается с возбуждения, одышки, болей за грудиной, кашля с пенистой мокротой, тахикардии, артериальной гипотензии, гипертермии, цианоза («серая гипоксия»).

4. Стадия обратного развития токсического отёка лёгких наступает на 2-3 сутки.

При отравлениях аммиаком или хлором может развиваться экзотоксический шок. Основные патофизиологические механизмы экзотоксического шока: нарушение проницаемости клеточных мембран и гиповолемия.

Особенности патогенеза при отравлениях аммиаком, хлором и фосгеном описаны выше.

1.4. Лечение отравлений пульмонотоксикантами

1.4.1. Аммиак

При любых видах отравлений аммиаком крайне важно быстро и правильно оказать первую помощь, так как именно от этого зависит жизнь человека [Алексеев Г.И., Иванов Б.П., Першин В.Н., 1994].

При ингаляционном поражении пострадавшего надо сразу же вывести на свежий воздух, посадить или придать ему полусидячее положение. Следует обильно промыть водой глаза, рот и нос пострадавшего и, если есть возможность, дать ему вдыхать водяной пар.

При отравлении аммиаком необходимо принять следующие меры:

1. Обильное промывание глаз фосфат-буферным раствором или водой, закапывание 0,5% раствора дикаина, потом 30% сульфацила натрия.

2. Поражённые участки кожи обрабатывают 5% раствором аскорбиновой, уксусной, борной или лимонной кислот.

3. Борьба с острой дыхательной недостаточностью [Бадюгин И.О., 1964]. При ларингоспазме, остром токсическом ларингите, бронхите ингалируют нафтизин или санорин, преднизолон. Внутривенно вводят 2,4% раствор эуфиллина 10 мл, седуксен 0,5% раствор 2 мл, преднизолон 60-300 мг, димедрол 1% — 1 мл. При развитии токсического отёка лёгких — морфин 1% — 1 мл с дроперидолом 0,25% — 1 мл, строфантин 0,05% — 1 мл, лазикс 40-200 мг, преднизолон в больших дозах до 1,5 г. У спасателей ряда Европейских стран на оснащении имеется препарат (дексаметазона изоникотинат) в виде дозированного аэрозоля, который применяют по 5 ингаляций однократно каждые 10 минут. При неэффективности мер — интубация трахеи и перевод на искусственную вентиляцию лёгких (ИВЛ) (в заражённой атмосфере используются специальные аппараты с противотоксическими фильтрами).

4. Борьба с экзотоксическим шоком. Обезболивание проводится путём введения наркотических или ненаркотических анальгетиков в сочетании с седуксеном. Инфузионная терапия: в одну вену вводится реополиглюкин 5 мл/кг, во вторую вену — глюкозоновокаиновая смесь (10% раствор глюкозы 500 мл и 2% раствор новокаина 30 мл), потом 4% раствор гидрокарбоната натрия. Объём инфузий контролируется по показателям гемодинамики и клиническим симптомам (аускультация лёгких).

Медикаментозная коррекция: допамин 5 мкг/кг/мин, при отсутствии эффекта — норадреналин 0,1% раствор 2 мл в 200 мл 5% раствора глюкозы, преднизолон 60-300 мг.

5. Оксигенотерапия.

Для устранения проявлений резорбтивного действия аммиака по показаниям используются методы патогенетической и симптоматической

терапии. Резорбтивные эффекты аммиака несколько уменьшаются при назначении глутаминовой кислоты и дельтарана.

Стандарты оказания помощи пораженным аммиаком, разработанные ВЦМК «Защита», представлены в Приложении 2 [Алексанин С.С., Астафьев И.М., Бонитенко Ю.Ю., Бонитенко Е.Ю., Никифоров А.М., Остапенко Ю.Н., Степин В.В., Шилов В.В., 2004].

1.4.2. Хлор

При постановке диагноза имеет значение анамнез, содержащий сведения об экстремальном воздействии хлором на пострадавшего. Лица, имевшие контакт с удушающими газами, подлежат обязательной госпитализации и стационарному наблюдению в течение суток, несмотря на хорошее общее самочувствие, так как по истечении периода мнимого благополучия у них может развиваться отёк лёгких. Окончательный диагноз ставится с учётом рентгенологических и лабораторных данных, функциональных исследований [Мясников В.В., 1989].

Показано также исследование газового состава артериальной крови. При вдыхании обычного воздуха в норме парциальное давление кислорода в крови (pO_2) составляет 90-100 мм рт. ст. Снижение pO_2 ниже 70 мм рт. ст. говорит о выраженной гипоксемии. К концу скрытого периода pO_2 снижается до 60 мм рт. ст., при синей гипоксии — до 40 мм рт. ст., а при серой гипоксии — до 25 мм рт. ст. [Подлесный А.М., Аникеев В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Особое значение имеют неотложность и раннее начало оказания медицинской помощи. Из организационных и санитарно-гигиенических мероприятий следует отметить следующие [Жамгоцев Г.Г., Предтеченский М.Б., 1993]:

- 1) необходимо изолировать опасную зону в радиусе 200 м и не допускать посторонних;
- 2) следует держаться с наветренной стороны, избегать низких мест, запретить вход в подвалы, тоннели;

3) входить в зону аварии нужно в полной защитной одежде (противогаз, изолирующий костюм, резиновые перчатки и обувь);

4) необходимо эвакуировать людей из зоны загрязнения (зона эвакуации — 10 км) [Лазарева Г.Ю., 2010].

При интенсивной утечке хлора для осаждения газа используют распыление воды, а для дегазации жидкого хлора применяют известковое молоко, растворы соды, каустика (60-80%) при расходе 2 л/кг хлора. Нейтрализация газообразного хлора проводится 1-5% раствором едкого натра [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

За пределами зоны загрязнения, с наветренной стороны, развертывают площадку (палатку) специальной обработки для частичной санитарной обработки открытых участков кожи и слизистых оболочек, замены одежды, обуви и белья [Каминский С.Л., 1989].

В очаге поражения оказывается первая медицинская помощь, в виде само- и взаимопомощи, частичной санитарной обработки, надевания противогазов. При явлениях раздражения дыхательных путей используют противодымную смесь, которую вводят в подмасочное пространство противогаза, или фицилин. Проводят сортировку и эвакуацию пострадавших с использованием сортировочных марок (красный цвет для пострадавших непосредственно у источника загрязнения, зелёный — для лиц, находившихся у границы очага) [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

За пределами очага поражения при оказании доврачебной и первой врачебной помощи снимаются противогазы и загрязнённая одежда, заполняется медицинская карточка, производится медицинская сортировка. Представляющих опасность для окружающих, направляют на пункты специальной обработки [Нечаев Э.А., Фаршатов М.Н., 1994].

Всем поступившим из очага с признаками поражения проводят следующие мероприятия:

- промывание глаз, носа и рта 2% раствором гидрокарбоната натрия;

- закапывание в глаза вазелинового или оливкового масла, а при болях в глазах — по 2-3 капли 0,5% раствора дикаина;

- наложение глазной мази для профилактики инфекции (0,5% синтомициновая, 10% сульфациловая) или по 2-3 капли 30% сульфацила натрия, 0,1% раствора сульфата цинка и 1% раствора борной кислоты — 2 раза в день;

- введение гидрокортизона 125 мг в/м, преднизолон 60 мг в/в или в/м [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Независимо от степени поражения всех пострадавших необходимо привести в положение сидя или полусидя и обеспечить максимальный покой и согревание. Показаны ингаляция бронхолитиков (сальбутамол и др.), тёплое молоко с боржомом или гидрокарбонатом натрия, вдыхание распылённого 1-2% раствора гипосульфита натрия в течение 1-2 дней или 2% раствора гидрокарбоната натрия 2-3 раза по 10-15 минут, ингаляции 10% раствора ментола в хлороформе, применение ненаркотических противовоспалительных средств (ибупрофен), внутривенно аскорбиновая кислота 5% раствор, 50 мл (возможен прием внутрь 3 г препарата), отхаркивающие средства (бромгексин и др.). При затруднении дыхания — теофедрин, эуфиллин, ингаляции солутана 2-3 раза в день или сальбутамола, тёплые содовые или водные ингаляции. При спазме голосовой щели — тепло на область шеи и введение атропина 0,1% — 1 мл подкожно. При кашле — кодеин 0,015 г по 1 таблетке 3 раза в день [Лужников Е.Л., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н., 1977; Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

При бронхоспазме — введение 10% раствора хлористого кальция по 5-10 мл внутривенно и оксигенотерапия. Для профилактики присоединения вторичной инфекции используют антибиотики широкого спектра действия (ампициллин, гентамицин и др.). При стойком бронхоспазме, отсутствии эффекта от предыдущего лечения: атропин 0,1% — 1 мл внутримышечно, преднизолон 30-60 мг внутривенно, орципреналин 0,5% внутримышечно, трахеостомия [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Если клинические проявления отравления хлором указывают на поражение средней и тем более тяжёлой степени, то медицинское наблюдение проводится в течение суток с целью своевременного обнаружения признаков начинающегося отёка лёгких. В этот период показан строгий постельный режим, ограничивается потребление жидкости, запрещается прием пищи. Рентгенологические исследования лёгких проводят каждые 2-3 часа [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

В скрытом периоде все мероприятия направлены на профилактику отёка лёгких и купирование ранних признаков развития дыхательной недостаточности. Наибольшее значение придается оксигенотерапии, ИВЛ, увлажнению трахеи и бронхов, коррекции обструктивных процессов (бронхолитики, муколитики, отхаркивающие средства, туалет бронхиального дерева, аспирация отёчной жидкости, массаж). Продолжаются коррекция сердечно-сосудистой деятельности, противовоспалительная терапия и профилактика инфекционных осложнений [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Оксигенотерапию начинают при первых признаках гипоксемии с целью снижения гиперфункции дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Оксигенотерапия позволяет нормализовать или уменьшить частоту дыхания, тахикардию, снизить АД, уменьшить патологические симптомы со стороны ЦНС. Традиционная оксигенотерапия эффективна только в начальном периоде, так как нарастание внутрилёгочного шунтирования крови снижает её эффективность. При сохранении спонтанного дыхания переход на оксигенотерапию с сохранением избыточного давления в конце выдоха препятствует ателектазированию альвеол. Если лечение начато своевременно, и патологический процесс перестал прогрессировать, в некоторых случаях этим методом можно ограничиться. Если состояние пациента ухудшается, то возникает необходимость перевода на ИВЛ [Лужников Е.Л., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н., 1977; Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Показаниями к применению ИВЛ являются компенсаторное напряжение сердечно-сосудистой и дыхательной систем, ухудшение газового состава

артериальной и венозной крови, необходимость замещения угнетённой или отсутствующей функции внешнего дыхания. Если в норме дыхательные мышцы потребляют 2-5% поступающего в организм кислорода, то при развившемся отёке лёгких потребление кислорода дыхательной мускулатурой достигает 50%. Поэтому рост кислородной цены дыхания подтверждает необходимость использования ИВЛ. Отмечено, что чем раньше пациента переводят на ИВЛ, тем меньше повреждения лёгочной ткани и лучше прогноз. Эффективность применения ИВЛ предусматривает тщательный контроль газового состава крови и наблюдение за кислотно-основным состоянием (позволяет быстро корригировать электролитные нарушения). Так, выявление метаболического алкалоза свидетельствует об отсутствии улучшений у пациента, находящегося на ИВЛ [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Химический ожог слизистой оболочки верхних дыхательных путей и тем более интубация и трахеостомия исключают естественное увлажнение вдыхаемого воздуха. При этом возникает необходимость дополнительного насыщения альвеолярного воздуха водой с помощью аэрозольных увлажнителей. Увлажнение воздуха проводят как при спонтанном дыхании, так и при осуществлении ИВЛ. Без увлажнения вдыхаемого воздуха эффективная респираторная терапия невозможна, так как газообмен при отёке лёгких затруднён из-за наличия в воздухоносных путях отёчной вспенившейся жидкости. Оксигенотерапия сопровождается ингаляционным применением противовспенивающих веществ — этилового спирта, 10% спиртового раствора антифомсилана, 10% водного раствора коллоидного силикона и т.д. [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Для ускорения перемещения мокроты из дистальных бронхов в проксимальные рекомендуется каждые 2 часа изменять положение больного в постели (постуральный дренаж). Поколачивание по грудной клетке ладонью, сложенной «лодочкой», для облегчения отхождения мокроты является дополнительным мероприятием для облегчения туалета трахеобронхиального дерева. Очень эффективен вибрационный массаж грудной клетки, проводимый

опытным массажистом [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Если пациент может производить хотя бы слабые кашлевые движения, это нужно использовать для очищения бронхов. Для сохранения кашлевого рефлекса необходимо избегать назначения опиатов.

Для устранения бронхиолоспазма и улучшения проходимости дыхательных путей применяются аэрозольные бронхолитики (сальбутамол, фенотерол и т.д.), бронхолитические смеси с эуфиллином и местными анестетиками, внутривенно вводят эуфиллин. Гормональная терапия, рекомендуемая при отёке лёгких, усиливает эффект бронхолитиков [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Для улучшения реологических свойств мокроты целесообразно проводить ингаляции рибонуклеазы, дезоксирибонуклеазы и т.д. Эффективно применение отхаркивающих средств (бромгексин, муколитин, глауцин, 3% раствор йодистого калия) [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

При профилактике вторичной инфекции хороший эффект дает сочетание антибиотиков пенициллинового ряда (бензилпенициллин 4-6 млн ЕД в сутки) с аминогликозидами (гентамицин). Такая комбинация слабо воздействует на аэробные кокки и не влияет на анаэробную флору, поэтому необходимо подсоединение третьего антимикробного препарата — тинидазола или метронидазола (по 0,5 г 3-4 раза в сутки). Коррекция антибиотиков должна проводиться с учётом антибиотикограмм и эффективности лечения [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Применение кортикостероидов может предупредить дальнейшее повреждение клеточных структур лёгочной ткани и лёгочных сосудов. Рекомендовано внутривенное введение преднизолона в суточной дозе до 1 г, распределенной на 5-6 приемов. Положительный результат дает применение аэрозольных кортикостероидов, действующих только на эпителий дыхательных путей и не попадающих в кровоток (беклометазон и др.) [Лужников Е.Л.,

Остапенко Ю.Н., Суходолова Г.Н., 2001; Подлесный А.М., Анিকেенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Очень тщательного подхода требует инфузионная терапия для восполнения ОЦК и парентерального питания. При токсическом отёке лёгких для коррекции гиповолемии следует применять сбалансированные солевые растворы, чередуя их с трансфузиями. Если гематокрит 30 и выше, ОЦК восполняют кристаллоидами. Если гематокрит ниже 30, переливают свежие (свежезамороженные) эритроциты в комбинации с кристаллоидами. Для ликвидации повышенной проницаемости сосудов (2-3 дня от начала поражения) нужно избегать перегрузки жидкостями, равно как и сколько-нибудь выраженной гиповолемии [Подлесный А.М., Анিকেенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

С началом восстановительного периода, когда жидкость возвращается из тканей в кровяное русло, может возникнуть опасность гиперволемии.

Осторожно используются и мочегонные средства. Только в том случае, если станет ясно, что инфузионная терапия привела к выраженной гиперволемии (высокое центральное венозное давление при отсутствии признаков периферического спазма), можно использовать мочегонные средства (например, фуросемид по 1-2 мл). При необходимости через 2-4 дня препарат вводят повторно. У пациентов с гиперволемией даже малая доза диуретика может вызвать значительный диурез. В таких случаях необходима коррекция электролитного баланса [Панаитеску Г., Попеску Э., 1976; Подлесный А.М., Анিকেенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

У большинства поражённых наряду с острой дыхательной недостаточностью нарастают признаки перегрузки сердечной деятельности. Состояние сердечно-сосудистой системы можно оценить как оптимальное (тёплая кожа, пульс до 100 уд/мин, нормальное АД., нормальные показатели газового состава крови, диурез более 30 мл/час), пограничное (кожа бледная, холодная, пульс выше 110-120 уд/мин, pO_2 в венозной крови снижено до 26-28 мм рт. ст., АД нормальное или несколько снижено, центральное венозное давление выше 120 мм рт. ст.) и неадекватное (синюшность кожных покровов, АД снижено,

неустойчиво, пульс более 130 уд/мин, центральное венозное давление выше 150 мм рт. ст., олигурия или анурия, высокая тахикардия и желудочковая экстрасистолия) [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

При пограничном состоянии можно назначить гликозиды. Убаин вводят по 0,5 мл каждые 6 часов капельно, предварительно растворив в глюкозе или изотоническом растворе. Назначают препараты калия, магния, кальция.

При неадекватной сердечной деятельности определяют рН артериальной крови. Если рН менее 7,3 ммоль/л, назначают инфузию 3% или 8% раствора гидрокарбоната натрия [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

Для снижения объёма циркулирующей крови и уменьшения отёка лёгких вводят периферические вазодилататоры (изадрин, новодрин, препараты нитроглицерина, нитропруссид натрия и др.) [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

При развившемся альвеолярном отёке лёгких продолжают мероприятия, направленные на обеспечение проходимости дыхательных путей и уменьшение гипоксии, снижение трансудации отёчной жидкости, коррекцию нарушений сердечно-сосудистой системы, предупреждение развития тромбоэмболии и инфекционных осложнений [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

1.4.3. Фосген

Для профилактики поражений фосгеном применяют фильтрующий противогаз. Обезвреживание отравляющих веществ (ОВ) достигается за счёт химической водно-щелочной пропитки активированных углей в противогазе и гидролитического разложения фосгена на угольную и соляную кислоты. Однако в подвальных помещениях, в горных ущельях, в оврагах, в лесу могут быть созданы повышенные концентрации ОВ, которые способны «пробить» противогаз и вызвать смертельные поражения [Костюченко А.Л., 1998].

Табельных медикаментозных средств, повышающих устойчивость организма к фосгену и дифосгену, нет. Однако профилактическим действием обладает уротропин (гексаметилентетрамин). В дозах 3 г внутрь или 20 мл 20% раствора внутривенно он обезвреживает фосген, сорбированный в лёгочной ткани. При этом образуется нетоксичное комплексное соединение.

Вдыхание антигистаминного порошка динатрийхромгликата (интал) в количестве 20 мг защищает тучные клетки Эрлиха от поражения фосгеном.

Комплексная патогенетическая терапия токсического отёка лёгких воздействует на основные звенья патогенеза:

- нормализация основных нервных процессов в рефлекторной дуге: рецепторы блуждающего нерва лёгких — гипоталамус — симпатические нервы лёгких;
- противовоспалительная терапия, нормализация обмена веществ;
- разгрузка малого круга кровообращения, уменьшение сосудистой проницаемости;
- ликвидация гипоксии путём нормализации кровообращения и дыхания.

Для устранения патологической импульсации с глубоких отделов дыхательных путей вдыхают под маской противогаза пары противодымной жидкости (ПДС) или фицилина (летучего анестетика). ПДС состоит из хлороформа и этилового спирта (по 40%), диэтилового эфира (20%), нашатырного спирта (3-5 капель на 100 мл). Оба препарата выпускались в ампулах с марлевой оплёткой. Ампулы перед употреблением следовало надломить, пропитать марлевую оплётку и вложить её под маску противогаза.

Фицилин — антидот раздражающих и удушающих веществ (в пластиковой ампуле). Применяется ингаляционно — отвинчивается колпачок и вдыхается содержимое. Вместо фицилина могут применяться: аммиак (10% раствор во флаконе) или педифен (0,25% раствор во флаконе-дозаторе спрей) [Петров А.Н., Нечипоренко С.П., Сомин И.Н., 2004; Романов В.В., Леженин А.В., Зивенко О.М., 2010; Первая помощь гражданам, пострадавшим в результате чрезвычайных ситуаций и иных угрожающих жизни случаях, 2011; Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Обильное промывание водой глаз и полости носа, закапывание в конъюнктивальный мешок 0,5% раствора дикаина способствуют устранению импульсации с наружных слизистых. Прием внутрь феназепама по 0,5-1 мг, 5 мл внутримышечно 5% раствора барбамила, введение внутримышечно 2 мл 2% раствора промедола, 0,5-1 мл внутривенно 5% раствора пентамина способствуют нормализации основных процессов в нейровегетативных рефлекторных путях, прерывают поток патологической импульсации.

На фоне поражения фосгеном и дифосгеном снижается иммунобиологическая резистентность, активируется размножение бактериальной и вирусной флоры в дыхательных путях, чему способствует переохлаждение поражённых. Поэтому следует заботиться о согревании пострадавших любыми доступными способами. Оправдано раннее применение антибиотиков и гидрокортизона [Лабори А., 1970].

Разгрузка малого круга доступна уже в очаге поражения. С этой целью на бедра накладываются венозные жгуты с условием сохранения пульсации бедренных артерий ниже уровня жгута. Жгуты, наложенные таким способом, способствуют скоплению венозной крови в ногах, что облегчает работу правой половины сердца, предупреждает развитие отёка лёгких. Проводимое на догоспитальном этапе медицинской эвакуации осторожное кровопускание в количестве 250-300 мл и назначение мочегонных средств способствуют разгрузке малого круга [Фосген и дифосген. Информационный сервер Medkurs]. Антигистаминные средства (димедрол и др.), аскорбиновая кислота, рутин, глюконат кальция уменьшают сосудистую проницаемость при начинающемся отёке лёгких [Хаты З.И., 1990].

Существует обоснованное мнение об отрицательном действии высоких концентраций кислорода при токсическом отёке лёгких. Чистый кислород повреждает альвеолы, усиливает в них деструкцию сурфактанта, повышает интенсивность свободнорадикальных процессов в лёгочной ткани.

Прямое противопоказание к кислородной терапии имеет хлорный отёк лёгких. При воздействии на слизистые дыхательных путей хлор взаимодействует

с влагой слизистых и образует активные продукты ионизации которые действуют синергично хлору.

Е.А. Лужников и Л.Г. Костомарова рекомендуют при отёке лёгких, вызванном пневмотоксическими газами, делать функциональные пробы с ингаляцией кислорода. Первоначально больному дают 25% кислородно-воздушную смесь. Если через 15 минут не наступило ухудшения, больные получают ингаляцию 35% кислородно-воздушной смеси. Лечение проводится короткими или длинными циклами: при коротких ингаляциях кислородно-воздушной смеси цикл продолжается 15 минут, отдых — 5 минут; длинный цикл продолжается 45 минут, отдых — 15 минут [Локтионов С.И., Лужников Е.А., 1977].

Кислородная терапия при отёке лёгких имеет и другую особенность — усиленное пенообразование жидкости, выделяемой поверхностью лёгких. Поэтому кислород увлажняют парами пеногасящих средств (этилового спирта или антифомсилана). При коматозном состоянии больного кислород пропускают через 20-30% раствор спирта [Лужников Е.Л., Костомарова Л.Г., 2000].

При коллапсе вводят сердечные гликозиды (0,05% раствор строфантина по 0,5-1 мл внутривенно в растворе глюкозы) [Лужников Е.Л., Дагаев В.Н., Фирсов Н.Н., 1977].

В стационарных условиях при угрозе тромбоза вен и лёгочной артерии вводят гепарин 40000-80000 ЕД внутривенно капельно в течение 4-6 часов.

Таким образом, фосген и дифосген способствуют возникновению очага поражения нестойкими ОВ замедленного действия. Санитарные потери в таком очаге формируются в течение 1-6 часов. Наиболее опасным периодом являются первые и вторые сутки после поражения. Следует определить микросимптомы поражения фосгеном в периоде скрытого действия и своевременно приступить к осуществлению лечебных мероприятий, направленных на предупреждение и ослабление степени тяжести токсического отёка лёгких.

Все пострадавшие, находившиеся в очаге поражения фосгеном, но сохранившие работоспособность, подлежат медицинскому контролю в течение

первых суток. При обнаружении признаков эмфизематозных изменений, токсической бронхопневмонии или отёка лёгких пострадавших направляют на догоспитальный этап медицинской эвакуации. Наличие признаков токсического отёка лёгких служит противопоказанием к эвакуации на госпитальный этап. Лишь после купирования отёка лёгких больных направляют для лечения различных осложнений в терапевтические госпитали.

1.5. Возможные отдалённые последствия острых отравлений пульмонотоксикантами

Как отдаленные последствия перенесенных острых отравлений пульмонотоксикантами иногда возникают хронические воспаления верхних дыхательных путей (ринит, ларингит, трахеит). В отдельных случаях трахеобронхиты принимают хроническое течение, могут периодически обостряться под влиянием различных факторов (грипп, переохлаждение и т.д.), медленно прогрессировать и способствовать развитию хронического рецидивирующего бронхита с последующими пневмосклерозом, эмфиземой лёгких, бронхоэктатической болезнью и сердечно-лёгочной недостаточностью. Возможна активация туберкулезного процесса [Подлесный А.М., Аникеенко В.Н., Беспалюк Г.Н., В.В. Кирьянов, 2004].

К возможным отдалённым последствиям острых отравлений пульмонотоксикантами можно отнести развитие у пострадавших хронических неспецифических заболеваний лёгких (ХНЗЛ). Проблема ХНЗЛ в настоящее время является весьма актуальной из-за широкого распространения среди трудоспособного населения. Неуклонное прогрессирование болезни, частое сочетание данной патологии с другими заболеваниями и развитие тяжёлых осложнений приводят к потере трудоспособности и смерти [Чучалин А.Г., 2003]. ХНЗЛ представляет собой значительную экономическую и социальную проблему, которая пока не имеет тенденции к улучшению. Это связано не только с широким распространением простудных и аллергических заболеваний бронхолёгочного аппарата и с возрастающим загрязнением атмосферного воздуха промышленными

поллютантами (пыль, аэрозоли, вредные промышленные газы), но и с острыми поражениями пульмонотоксикантами в анамнезе. Многие исследователи акцентируют внимание именно на воздействии негативных факторов, загрязняющих окружающую среду, под влиянием которых от внутриутробного развития человека до его старости происходит кумуляция клеточных повреждений на генном уровне, что может приводить к развитию ХНЗЛ [Чучалин А.Г., 2007; MacNee W., 2000].

В патогенезе ХНЗЛ наибольшую роль играют хронический воспалительный процесс, дисбаланс протеиназ и антипротеиназ в лёгких, оксидативный стресс. Воспаление при ХНЗЛ носит не только местный, но и системный характер, что связано с увеличением количества и изменением функции циркулирующих воспалительных клеток, повышением уровня провоспалительных цитокинов и белков острой фазы, а также оксидантов, обуславливающих развитие окислительного стресса и системной эндотелиальной дисфункции [MacNee W., 2000; Barnes P.J., 2004; Gan W.Q., Man S.F., Senthilselvan A., Sin D.D., 2004].

По частоте летальных исходов ХНЗЛ занимает четвёртое место в мире в возрастной группе старше 45 лет, и этот показатель продолжает расти [Авдеев С.Н., 2004; Чучалин А.Г., 2007; Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: Updated 2014, 2014]. Лечение этих заболеваний представляет собой длительный и сложный процесс. Поэтому весьма актуальными задачами являются разработка адекватных и воспроизводимых экспериментальных моделей ХНЗЛ и испытание на них новых перспективных препаратов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Животные (тест-система) и их содержание

Грызуны являются стандартными объектами в биологическом эксперименте [Березовская И.В., Капиносова Е.П., Тычинин В.В., 1988; Oser V.L., 1981]. Эксперименты выполнялись на белых нелинейных мышах и крысах. Животные поступили из питомника РАМН «Рапполово», Ленинградская область: крысы массой 160-180 г в возрасте 13-14 недель; мыши массой 18-20 г в возрасте 8-9 недель.

Содержание животных проводилось в соответствии с правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986 г.). Крысы находились по 10 особей в пластиковых клетках фирмы VELAZ на подстилке из мелкой древесной стружки.

Кормление животных осуществлялось дважды в день. Комбикорм для грызунов поступал из Гатчинского комбината по производству комбикормов для лабораторных животных. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) [ГОСТ Р 53434-2009, 2009] и Приказу МЗ СР РФ №708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» [Приказ №708н от 23.08.2010 г., 2010]. Опыты проведены в соответствии с правилами гуманного обращения с животными в биологических экспериментах [Directive 2010/63/EU, 2010], «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (РФ, утв. 06.04.1973); «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» (USA, National Academy Press, Washington, D.C., 1996); «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» (FELASA, 2010); «Лабораторные животные» (положение и руководство, Российская Академия Медицинских Наук, Москва, 2003).

Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации. Животные, не соответствующие критериям, были исключены из исследования в течение карантина.

Клетки с животными помещены в отдельные комнаты. Световой режим: 12 час — свет, 12 час — темнота. Температура воздуха поддерживалась в пределах 19-25°C, относительная влажность — 50-70%. Температура и влажность воздуха регистрировались ежедневно. При изменении погодных условий контролировался воздухообмен в помещении с помощью анемометра и путём измерения содержания в воздухе углекислого газа и аммиака. Установлен режим проветривания, обеспечивающий около 15 объёмов помещения в час, концентрацию CO₂ не более 0,15 объёмных %, аммиака — не более 0,001 мг/л [Западнюк И.П. и др., 1983; Каркищенко Н.Н., 2010].

2.2. Материалы и методы при разработке экспериментальных моделей острых ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном

По принципу воздействия ингаляционные методы могут быть разделены на камерные, т.е. при которых создается концентрация исследуемого вещества в ограниченном объёме или в подмасочном пространстве, и методы индивидуального дозирования, т.е. когда заранее известная масса вещества в ингаляционно доступной форме доставляется в требуемый участок дыхательного тракта биообъекта.

Для проведения экспресс-анализов, при работе с крайне агрессивными химическими веществами, при кратковременном ингаляционном воздействии используется метод статической затравки, т.е. с камерой без воздухообмена. Исследуемое вещество помещается внутри камеры в тигле (при химической

возгонке) или подается одновременно извне (дым, газ). Создаваемая концентрация определяется химико-аналитическим методом после отбора проб воздуха. Используются мелкие лабораторные животные.

Для исследования пылей и пудр имеются пылевые камеры объемом 100 л. Они выполнены из стали, цилиндрической формы с коническими полом и потолком для равномерного распределения пыли по объему. Внутри каждой камеры помещён вентилятор, поддерживающий пылевую атмосферу. Одна камера может обеспечить одновременную ингаляцию до 20 крыс или морских свинок способами «только голова» или «животное целиком». Режим камер — динамический, т.е. обеспечиваются принудительно приток и отток воздуха. Поэтому возможны длительные, в том числе и хронические затравки. Дозируется пыль специальным дозатором вибрационного типа, устанавливаемом над отверстием в крышке камеры.

Создание ингаляционной атмосферы и измерение концентрации исследуемого вещества имеют важное значение, но не решают полностью задачу изучения токсического (терапевтического) действия вещества на организм биообъекта, поскольку ингаляционная доза зависит ещё и от объёма дыхания и от размера вдыхаемых частиц (через глубину проникания в дыхательный тракт). Поэтому, для определения массы вещества, поступившей в организм, приходится измерять косвенными методами (по реограмме, по экскурсии грудной клетки) минутный объём дыхания и, соотнося его с прямым измерением пневмотахограммы, определять поглощенную ингаляционную дозу.

Метод прямого индивидуального дозирования, разработанный в Институте токсикологии, позволяет решить эту проблему более эффективно. Он заключается в следующем: ингалируемое вещество (жидкость, дым, газ или пыль) преобразуются в ингаляционно доступную форму (пар, аэрозоль, газ, пылевая или дымовая атмосфера) непосредственно в ротовой полости биообъекта в виде миниатюрного облака в начальный момент каждого вдоха. После чего вещество с естественным током воздуха поступает в дыхательные пути. Экспериментально установлено, что если точность синхронизации с началом вдоха не более 5 мс, а

длительность ингаляционного импульса не превышает 20% длительности вдоха, то количество осажденного в дыхательном тракте вещества составляет не менее 95%, т.е. потери с выдохом не превышают 5%.

Практической реализацией этого метода является дозирующий ингалятор. Прибор генерирует высокодисперсный аэрозоль любых жидкостей (в том числе и с большой вязкостью) в импульсном (от 0,01 до 1,0 с) и непрерывном режимах, а также позволяет дозировать газы, пары и дымы, поступающие под давлением. Дозирующий ингалятор измеряет кривую дыхания и синхронизирует подачу вещества с началом вдоха с точностью 3 мс. Дозирование может осуществляться как по числу откалиброванных импульсов распыления (не хуже 0,1 мкг), так и по объёму распыляемого вещества (микрошприцем).

Прибор предназначен для работы с мелкими и крупными лабораторными животными. Животные в ходе эксперимента фиксируются в естественном положении в специальном приспособлении. Величину дисперсности аэрозоля можно изменять в широких пределах благодаря конструкции распылителя от 200 мкм до размеров нескольких молекул (до пара). Это дает возможность избирательно воздействовать на различные зоны дыхательного тракта.

Комбинация различных методов и устройств позволяет решать практически любые задачи при изучении ингаляционных воздействий, в т.ч. при моделировании токсического действия сильнодействующих ядовитых веществ (СДЯВ).

2.3. Материалы и методы при разработке экспериментальной модели хронических неспецифических заболеваний лёгких

Моделирование ХНЗЛ на крысах осуществляли модифицированным методом комбинированного хронического ингаляционного воздействия пылью с дополнительной сенсбилизацией подкожным введением сывороточного альбумина [Путов Н.В., Федосеева Г.Б., 1978; Саноцкий И.В., 1970].

В ходе эксперимента оценивались следующие показатели: выживаемость, общее состояние и поведение животных, потребление корма и воды, динамика

массы тела (еженедельное взвешивание на весах ВЛР-500), уровень бронхиальной обструкции и другие показатели дыхания по пневмотахограмме.

На заключительной стадии эксперимента после эвтаназии у животных оценивали состояние паренхимы лёгких по следующим показателям:

- соотношению в бронхоальвеолярных смывах (БАС) альвеолярных макрофагов (АМ) и нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) по Б.А. Кацнельсону [Кацнельсон Б.А., 1986];

- активности лёгочных сурфактантов в гомогенатах лёгких по величине поверхностного натяжения (ПН) [Колбасов С.Е., 1983];

- величинам ВКЛ;

- содержанию в гомогенатах тканей лёгких малонового диальдегида (МДА) [Стальная И.Д., 1977], аскорбиновой кислоты (АК) [Novikov N.I., Preobrazjenskaya T.N., 1993] и восстановленного глутатиона (Г-SH) [Прохоров М.И., 1982];

- морфологической и гистологической картина (лёгкие фиксировали в 15% формалине и заливали в парафин; срезы окрашивали гематоксилин-эозином) [Меркулов Г.А., 1969; Коржевский Д.Э., 2005].

Интенсивность аллергического и воспалительного процессов в лёгких оценивали, анализируя сыворотку венозной крови, которую получали пункцией хвостовой вены крыс до их эвтаназии в конце эксперимента. Определялись следующие показатели:

- активность кислой и щелочной фосфатаз (КФ, ЩФ), содержание общего белка с помощью наборов Био-Ла-Тест чешской фирмы «Лахема»;

- белковые фракции — электрофорезом на бумаге; С-реактивный белок (СРБ); сиаловые кислоты; скорость оседания эритроцитов (СОЭ); содержание лейкоцитов и лейкоцитарную формулу общепринятыми методами [Меньшиков В.В., 1980].

2.4. Материалы и методы оценки эффективности лекарственных препаратов

Препараты применялись в дозах, рекомендованных для человека и экстраполированных на крыс с коэффициентом 5,9. Каждый препарат вводили

рекомендованным способом: внутримышечно (в/м) или ингаляционно (инг.). В/м введение осуществляли в мышцы бедра. Ингаляционное введение осуществляли на вдохе (рисунок 1).

Препараты применялись в адаптированных для грызунов дозах через минуту после окончания воздействия. Оценивали выживаемость и состояние показателей эффективности лечения (потребление кислорода, весовой коэффициент лёгких, активность маркеров цитолиза и показатели токсемии).

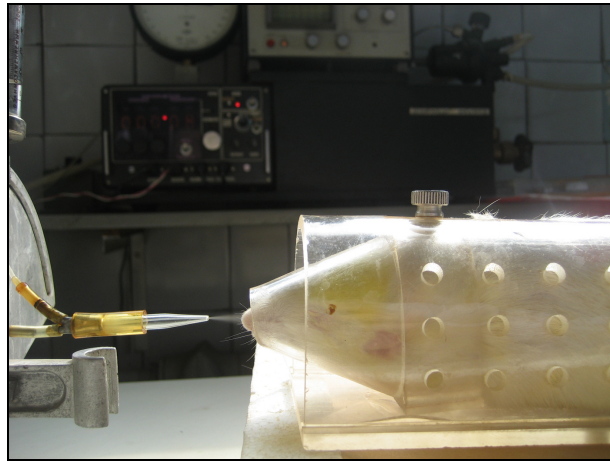


Рисунок 1 — Ингаляционное введение препаратов

Общее состояние оценивалось при осмотре животных. Животных и их лёгкие взвешивали на электронных весах 1602 MP немецкой фирмы «Sartorius».

В качестве показателей цитолиза клеток лёгких определяли активность КФ и ЩФ в крови с помощью наборов Био-Ла-Тест чешской фирмы «Лакхема».

Показатели, характеризующие степень выраженности эндогенной интоксикации — олигопептидов (ОП) и веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ), — определяли по Малаховой [Малахова М.Я., 1995].

В гомогенатах тканей лёгких определяли концентрацию МДА [Стальная И.Д., 1977], АК [Novikov N.I., Preobrazjenskaya T.N., 1993] и Г-SH [Прохоров М.И., 1982].

Потребление кислорода животными определяли закрытым камерным методом Regnault [Ольнянская Р.П., Исаакян Л.А., 1959] в аппарате Миропольского (рисунок 2). Принцип метода состоит в прямом измерении объёма кислорода, потреблённого исследуемым животным, помещённым в герметичную респирометрическую камеру. Выдыхаемый диоксид углерода поглощается

щёлочью. Возникающее вследствие этого разрежение вовлекает в респирометрическую камеру кислород из бюретки, в которую одновременно поступает равный объём манометрической жидкости.

Интенсивность потребления кислорода организмом — Q_{O_2} , мкмоль/(кг · мин) — рассчитывали из уравнения (1):

$$Q_{O_2} = V \cdot F / (0,0224 \cdot m \cdot \Delta t), \quad (1)$$

где

V — объём манометрической жидкости, поступившей в бюретку, мл;

F — коэффициент для приведения объёма кислорода к нормальным условиям, т.е. к сухому состоянию при 0°C и атмосферном давлении 760 мм рт. ст.;

0,0224 — объём 1 микромоля газа, мл, при нормальных условиях;

m — масса тела животного, кг;

Δt — время пребывания крысы в герметизированной камере, мин.

Продолжительность измерения составляла 3 минуты, его абсолютная погрешность — 0,1 мл ($\leq 2\%$ величины V), объём респирометрической камеры — 0,9 л. Во время респирометрии животных не фиксировали, они имели свободу перемещения в горизонтальной плоскости в пределах респирометрической камеры и, как правило, выглядели заторможенными. В это время подсчитывали частоту дыхательных движений (ЧДД, мин^{-1}), которую рассматривали как показатель интенсивности внешнего дыхания.

В качестве показателя эффективности внешнего дыхания использовали среднее потребление кислорода организмом за 1 дыхательный цикл. Этот показатель (q_{O_2} , мкмоль/кг) рассчитывали как отношение Q_{O_2} и ЧДД.

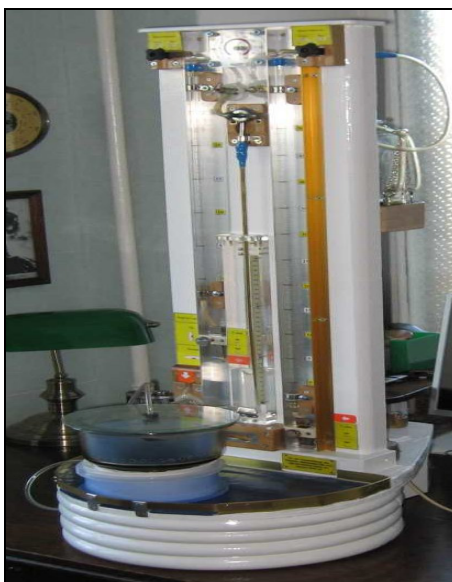


Рисунок 2 — Аппарат Миропольского для оценки потребления кислорода животными

Суммационно-подпороговый показатель (СПП) у крыс определяли по С.В. Сперанскому, показатели спонтанной двигательной активности — по методу «открытого поля», статическую выносливость к физической нагрузке — по показателю мышечной силы.

Процедура проведения теста «открытое поле» включала в себя регистрацию 6 компонентов поведения в течение 5 минут наблюдения: латентный период выхода, вертикальную и горизонтальную активность, количество заглядываний в норки, груминг и болюсы.

Для определения спонтанной двигательной активности (СДА) эксперименты проводились на 10 крысах каждого пола из каждой экспериментальной группы. Крысы по одной помещались в регистрационную камеру автоматического регистратора «Coulburn Instruments» (США), где в течение 35 минут у них регистрировалось количество движений.

Влияние препаратов на мышечную силу изучали с помощью силомера «Grip Strength Meter» фирмы «Ugo Basile S.R.L.» (Италия). При этом фиксировали показания силомера в момент, когда крыса отпускала передние лапки от ручки силомера при вытягивании её за хвост.

Систолическое артериальное давление (АД) определяли на измерителе давления крови фирмы «Ugo Basile», Италия. Измерение АД проводили на хвосте

крыс бескровным методом при помощи манжетки и пьезоэлектрического датчика пульса.

Частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли путём подсчёта числа осцилляций на кривой записи АД за 6 секунд записи. Полученную величину умножали на 10 и получали число сокращений сердца за 1 минуту. ЭКГ снимали у крыс во II стандартном отведении с помощью игольчатых электродов и полиграфической системы «Nihon Kohden», Япония.

Регистрацию показателей функции внешнего дыхания у крыс проводили с помощью системы исследования функции дыхания в составе комплекса для электрофизиологических исследований (Полиграф) MP150WSW «BIOPAC Systems, Inc.» (США).

2.5. Материалы и методы изучения безопасности препарата «Сальбуфен»

2.5.1. Наблюдение за животными

Ежедневный осмотр

В ходе исследования каждое животное осматривалось ежедневно. Осмотр включал в себя оценку общего состояния и поведения животных.

Осмотр животного в клетках

Ежедневно все группы животных были осмотрены в клетках: непосредственно после введения препарата и в конце дня.

2.5.2. Перечень регистрируемых показателей

Вес тела

Точность используемых весов верифицирована до начала исследования. Вес тела каждого животного определялся до исследования, на 7, 14, 21 и 30 сутки.

Потребление воды и корма

Для учета потребления воды и корма крысы помещались в обменные клетки фирмы «Tecniplast» (Италия). Потребление воды и корма животными определялось до исследования, на 7, 14, 21 и 30 сутки.

Ректальная температура

Измерение ректальной температуры животных проводилось до исследования, на 7, 14, 21 и 30 сутки.

Физиологические исследования

Следующие физиологические тесты проведены до начала исследования, на 7 и 30 сутки:

1. «Открытое поле».
2. Спонтанная двигательная активность.
3. Исследование суммационной способности ЦНС.
4. Электрокардиография.
5. Измерение АД.

Лабораторные исследования

Перечисленные ниже лабораторные исследования проведены на 30 сутки. Забор крови у животных осуществлялся после 14-15-часового голодания.

Крысы: Накануне забора крови у крыс убирали кормушку с кормом. На следующий день в 9.00-10.00 животных умерщвляли декапитацией с помощью гильотины под лёгким наркозом [Directive 2010/63/EU, 2010] и собирали кровь.

Гематологические исследования

1. Гематокрит.
2. Гемоглобин.
3. Количество эритроцитов.
4. СОЭ.
5. Количество лейкоцитов.
6. Лейкограмма.
7. Тромбоциты.

Биохимия сыворотки крови

1. Общий белок.
2. Аспартатаминотрансфераза (АсАТ).
3. Аланиноамиотрансфераза (АлАТ).
4. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ).
5. Щелочная фосфатаза.
6. Мочевина.
7. Креатинин.
8. Холестерин.
9. Общий билирубин.
10. Глюкоза.
11. Протромбиновое время.

Исследование мочи

1. Удельный вес.
2. Реакция.
3. Микроскопия осадка.
4. Белок.
5. Глюкоза.
6. Кетоновые тела.
7. Желчные пигменты (билирубин).

Патоморфологические исследования

Перечень органов, подлежащих взвешиванию:

1. Сердце.
2. Лёгкие без или с трахеей.
3. Тимус.
4. Печень.
5. Селезёнка.
6. Почки.
7. Надпочечники.
8. Яички (два) — самцы.

9. Яичники (два) — самки.

10. Головной мозг.

Точность используемых весов верифицирована до начала исследования.

Перечень органов, подлежащих макроскопическому исследованию:

1. Лимфатические узлы.

2. Молочные железы — самки.

3. Аорта.

4. Сердце.

5. Полость рта, глотка.

6. Гортань.

7. Трахея.

8. Лёгкие с бронхами (два).

9. Тимус.

10. Пищевод.

11. Желудок (железистый и агранулярный отделы).

12. 12-перстная кишка.

13. Тонкий кишечник.

14. Толстый кишечник.

15. Печень (две доли).

16. Поджелудочная железа.

17. Селезёнка.

18. Почки (две).

19. Надпочечники.

20. Мочевой пузырь.

21. Матка (оба рога и шейка) — самки.

22. Яички вместе с эпидидимусами (два) — самцы.

23. Яичники (два) — самки.

24. Подчелюстная слюнная железа с лимфатическими узлами.

25. Щитовидная/паращитовидная железа.

26. Головной мозг (3 отдела: передний, средний и задний).

Перечень органов, подлежащих гистологическому исследованию:

1. Аорта.
2. Сердце.
3. Трахея.
4. Лёгкие с бронхами.
5. Тимус.
6. Пищевод.
7. Желудок.
8. Поджелудочная железа.
9. Печень (две доли).
10. Селезёнка.
11. Почки (две).
12. Надпочечники (два).
13. Яички вместе с эпидидимусами (два) — самцы.
14. Яичники (два) — самки.
15. Подчелюстная слюнная железа с лимфатическими узлами.
16. Щитовидная железа.
17. Головной мозг (3 отдела: передний, средний и задний).

2.5.3. Гематологические исследования

Для общеклинического анализа крови использовали автоматический гематологический анализатор BC-3000plus, компании Mindray (КНР). Это полностью автоматизированный гематологический анализатор для подсчёта клеток крови и эритроцитарных индексов.

Кровь для подсчёта форменных элементов в автоматическом гематологическом анализаторе забиралась в пробирку, содержащую в качестве антикоагулянта ЭДТА (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) после чего подвергалась исследованию.

Определение СОЭ

Стабилизированную в процессе забора кровь набирали в капиллярную пипетку Панченкова до метки и помещали в аппарат Панченкова. Через 1 час по делениям на капиллярной пипетке определяли высоту освободившегося от эритроцитов столбика плазмы.

2.5.4. Биохимические исследования сыворотки крови

Забор биологического материала

Для биохимических исследований забор крови у экспериментальных животных осуществляли в сухой вакутейнер или чистую сухую пробирку. Далее отобранный биологический материал центрифугировали при 3000 об/мин, при 4°C, 10 минут. Далее отбиралась надосадочная жидкость — сыворотка, которая использовалась для дальнейших исследований. Сыворотка была без признаков гемолиза, прозрачная. Если исследования не производились в тот же день, то сыворотку замораживали при -20°C.

Определение биохимических показателей производили на биохимическом анализаторе Mindray BS-200 (КНР) с использованием наборов фирмы Fluitest фирмы Analyticon. Контроль качества исследований производился на аттестованных контрольных материалах Contronorm Plus и Contropath Plus.

Определение концентрации натрия, калия и кальция

Принцип метода: ионы сыворотки крови определяли с помощью метода плазменной фотометрии, который основан на способности химических элементов возбуждаться и испускать лучи света определенной длины волны при сжигании солей минеральных веществ в пламени. Для определения концентрации натрия плазму крови разводили водой 1:100, калия и кальция — 1:10. Плазменный фотометр калибровали по стандартным растворам и определяли содержание электролитов в образцах плазмы крови. Результаты выражали в ммоль/л.

2.5.5. Определение показателей свёртывающей системы крови

Забор биологического материала

Кровь собирали в вакутейнер или пластиковую пробирку, содержащие антикоагулянт — 3,8% раствор трёхзамещённого цитрата натрия. Соотношение объёмов крови и цитрата натрия — 9:1. Кровь немедленно и аккуратно перемешивали с антикоагулянтом. В течение 60 минут после забора крови образцы центрифугировали. Перед центрифугированием внимательно проверяли пробирку на наличие сгустков.

Образцы крови, подлежащие исследованию, хранили при температуре 4-8°C. Такое охлаждение тормозит активацию, как свёртывающей системы крови, так и фибринолиза, но мало препятствует выходу из кровяных пластинок в плазму тромбоцитарных факторов свёртывания. В связи с этим плазму для исследования функций тромбоцитов хранили при температуре 14-18°C.

Скорость и время центрифугирования играют определенную роль при получении плазмы в зависимости от целей исследования. Для получения плазмы, богатой тромбоцитами, рекомендуется режим центрифугирования при 1500 об/мин (600 g) в течение 5-7 минут, после чего отбирают плазму. Для получения бедной тромбоцитами (бестромбоцитарной) плазмы стабилизированную или тромбоцитарную плазму центрифугируют при 3000 об/мин (1200 g) в течение 15-20 минут и отбирают плазму.

Оценка протромбинового времени

Для определения протромбинового времени использовали набор «Техпластин-тест» фирмы «Технология стандарт» (Россия).

2.5.6. Исследование мочи

Забор биологического материала

Анализ мочи является важным информативным исследованием и включает в себя определение физико-химических свойств (цвет, прозрачность, pH,

относительная плотность), микроскопию осадка, изучение содержания конечных продуктов метаболизма и патологических компонентов.

Для сбора мочи при проведении исследований животные помещались в обменные клетки итальянской фирмы «Tecniplast».

Сохранение мочи

Исследования проводились со свежесобранной мочой. В случае необходимости она хранилась в холодильнике не более 1,5 часа.

Исследования мочи проводились на экспресс-анализаторе мочи ROKI EXPRESS с помощью индикаторных полосок. Методы определения основаны на применении фотометрии отражённого света. Определяемые параметры: глюкоза, белок, рН, скрытая кровь, кетоны, билирубин, уробилиноген, нитриты, удельная масса и лейкоциты в пробах мочи.

Для исследования применялись экспресс-полоски AUTION Sticks 10EA для мочи фирмы «ARKRAY» (Япония).

Ход определения концентрации исследуемого параметра: полоску индикаторной бумаги погружают в исследуемую мочу и помещают в считывающее устройство анализатора. Через 1 минуту развившаяся окраска каждой пробы оценивается с помощью 10 оптических измерительных головок.

Микроскопия осадка

После исследования мочи на экспресс-анализаторе мочи ROKI EXPRESS с помощью индикаторных полосок мочу центрифугировали, из осадка готовили мазки для счёта под микроскопом эритроцитов, лейкоцитов, эпителиальных клеток и цилиндров.

2.5.7. Физиологические исследования

Поведение, двигательная и исследовательская активность исследовались с помощью метода «открытое поле», состояние мышечного тонуса оценивалось по изменению силы хватки [Хабриев Р.У. и др., 2005; Миронов А.Н. и др., 2012].

«Открытое поле» — представляет собой круглую камеру (арену) диаметром 1 м, с высотой стенок 0,5 м из белого пластика, дно которой расчерчено на три

ряда секторов одинаковой площади с отверстиями (норками) находящимися на их пересечении. Освещение производилось лампой мощностью 100 Вт, подвешенной на высоте 1,5 м от дна арены. Крыс помещали в центр арены и регистрировали время выхода из центрального сектора (латентный период). В течение 3-х минут подсчитывали число пересечённых секторов (горизонтальная активность), стоек (вертикальная активность), количество заглядываний в норки и актов груминга.

Методика открытого поля используется для изучения влияния веществ на ориентировочно-исследовательское поведение, двигательную активность, выявления анксиолитического действия и позволяет оценить: выраженность и динамику отдельных поведенческих элементов; уровень эмоционально-поведенческой реактивности животного [Буреш Я, 1991].

Спонтанная двигательная активность (СДА)

Аппаратура. Автоматическая система регистрации движений «Клетка активности» производства «Ugo Basile», Италия.

Процедура. Крысу помещают на 3 минуты в камеру для получения фоновых данных в опытных и контрольной группах животных. Тестирование проводят в фоне, после окончания введения препарата на 30 сутки.

Регистрация ЭКГ и АД

Эксперименты проводят на ненаркотизированных животных.

Аппаратура. Определение систолического артериального давления у крыс проводят с помощью системы неинвазивного измерения кровяного давления у мелких животных в составе комплекса для электрофизиологических исследований (Полиграф) MP150WSW «BIOPAC Systems, Inc.» (США). Определение ЭКГ проводят на электрокардиографе для ветеринарии «Поли-Спектр-8Е/8В» фирмы «Нейрософт» (Россия). Анализ ЭКГ проводят при помощи пакета прикладных программ фирмы Нейрософт, предназначенных для мелких млекопитающих.

Процедура. Крыс помещают в специальные пеналы. ЭКГ и артериальное давление (АД) регистрируют спустя несколько минут при стабилизации показателей. ЭКГ регистрируют во 2-ом стандартном отведении. АД

регистрируют на хвосте крысы с помощью пьезоэлектрического датчика и манжетки соответствующего размера через несколько минут после помещения животного на термостатированную пластинку, обеспечивающую поддержание температуры в клетке в пределах 26-27°C.

2.5.8. Изучение возможного местнораздражающего действия

Конъюнктивальная проба

Для постановки пробы 50 мкл препарата «Сальбуфен» вводили под верхнее веко глаза контрольных и опытных групп кроликов. Под верхнее веко второго глаза вводили такой же объём воды (контроль).

Реакцию учитывали через 15 минут (быстрая реакция) и через 24-48 часов (замедленная реакция) и оценивали в баллах по следующей шкале:

- 1 — лёгкое покраснение слёзного протока;
- 2 — покраснение слёзного протока и склеры в направлении к роговице;
- 3 — покраснение всей конъюнктивы и склеры.

Патоморфологическое исследование

Оценку местнораздражающего действия исследуемого препарата проводили во время процедуры макроскопического и гистологического исследования внутренних органов.

2.5.9. Патоморфологические исследования

Патоморфологическому исследованию подлежали следующие животные:

- все животные, получавшие максимальную дозу — в конце исследования;
- все контрольные животные — в конце исследования.

Патоморфологическое исследование включало в себя necropsy, макроскопическое исследование, взвешивание и гистологическое исследование внутренних органов. Necropsy выполнялась под непосредственным наблюдением патоморфолога. После эвтаназии животные тщательно обследованы на предмет наружных патологических признаков. Осмотр слизистых оболочек

полости рта, носа, носоглотки, гортани, трахеи и крупных бронхов позволил оценить местнораздражающее действие исследуемого препарата. Проведено исследование состояния грудной и брюшной полости, макро- и микроскопическое исследование внутренних органов.

Некропсия

1. Подготовка к вскрытию.
2. Наружный осмотр.
3. Состояние полостей и положение внутренних органов.
4. Макроскопическое исследование внутренних органов.

Гистологическое исследование

1. Подготовка фиксирующих жидкостей.
2. Отбор материала во время вскрытия.
3. Фиксация материала.
4. Вырезание кусочков фиксированного материала.
5. Уплотнение обезвоживание кусочков заливка в парафин.
6. Резка кусочков на замораживающем микротоме.
7. Резка блоков на санном микротоме.
8. Окраска замороженных срезов.
9. Окраска парафиновых срезов.
10. Просмотр гистологических препаратов.
11. Описание препаратов.
12. Микрофотосъёмка изготовление отпечатков.

Мазок костного мозга

У всех животных при некропсии брали костный мозг из бедренной кости аспирацией и делали мазки. Мазки высушивали, фиксировали и окрашивали.

2.6. Материалы и методы при разработке практических рекомендаций и проекта инструкции

При разработке практических рекомендаций и проекта инструкции по применению нового комплексного аэрозольного препарата «Сальбуфен» для

лечения ингаляционных поражений аварийно химически опасными веществами (АХОВ) из группы пульмонотоксикантов использовали результаты собственных экспериментальных исследований и доступные данные литературы по патогенезу, клинике, диагностике и лечению ингаляционных отравлений аммиаком, хлором и фосгеном и другими пульмонотоксикантами. Кроме этого, использовали инструкции по медицинскому применению отобранных лекарственных средств и требования действующих нормативно-правовых документов по вопросам охраны здоровья граждан, медицинского обеспечения при аварийных ситуациях в промышленности и на транспорте при перевозке опасных грузов:

- Федеральный закон от 22.07.1993 г. №5487-1 «Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» (ред. от 07.12.2011 г.);

- Федеральный закон от 21.12.1994 г. №68-ФЗ «О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» (ред. от 21.07.2014 г.);

- Федеральный закон от 21.07.1997 г. №116-ФЗ «О промышленной безопасности опасных производственных объектов» (ред. от 02.07.2013 г.);

- Федеральный закон от 30.03.1999 г. №52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (ред. от 23.06.2014 г.);

- Федеральный закон от 12.04.2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 12.03.2014 г.);

- Федеральный закон от 21.11.2011 г. №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (ред. от 21.07.2014 г.);

- Постановление Правительства Российской Федерации от 30.12.2003 г. №794 «О единой государственной системе предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций» (ред. от 15.02.2014 г.);

- Постановление Правительства Российской Федерации от 21.05.2007 г. №304 «О классификации чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» (ред. от 17.05.2011 г.);

- Приказ Федерального управления «Медбиоэкстрем» от 03.11.2004 г. №141з «О создании единой системы медицинского мониторинга при хранении, перевозке и уничтожении химического оружия»;

- Приказ Федерального медико-биологического агентства от 21.10.2008 г. №384 «О клинко-токсикологических бригадах ФМБА России»;

- Методические рекомендации «Организация медико-санитарного обеспечения при террористических актах с использованием опасных химических и отравляющих веществ». Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 28.12.2001 г. №2510/13132-01-34.

2.7. Методы статистического анализа

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel и «Statistica 6». В каждой группе рассчитывали средние значения и ошибку среднего ($M \pm m$). Оценку различий между выборками осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Уровнем достоверности различий считали $p \leq 0,05$ [Гланц С., 1998].

2.7.1. Сравнение средних по t-критерию Стьюдента

Чаще всего статистический анализ данных выполняется с помощью сравнения групповых средних по t-критерию Стьюдента [Student, 1908; Кобзарь А.И., 2006; Орлов А.И., 1987].

2.7.2. Использование методов дисперсионного анализа

В настоящем исследовании для анализа данных также использовались методы, основанные на применении линейных статистических моделей. В нашем случае наибольший интерес представляет критерий неоднородности групп.

Этот критерий позволяет ответить на вопрос, можно ли считать различие средних значений в экспериментальных группах результатом естественного разброса данных, т.е. являются ли группы однородными.

ГЛАВА 3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРЫХ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Хроноконцентрационные модели разработаны для наиболее актуальных СДЯВ: аммиака, фосгена и хлора. При этом животные целиком помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л. Время затравки в динамическом или статическом режимах варьировало в зависимости от вида животных. Дозирование осуществлялось гравиметрически с учётом обычных потерь на оседание и адгезию — 25-30% для газов. Контроль истинных концентраций проводился после отбора проб заражённого воздуха химико-аналитическими методами [Саноцкий И.В., Уланова И.П., Сидоров К.К., 1980, 1985].

Из литературы известно, что экспериментальные ключевые показатели эффективности применения лекарственных средств при поражениях пульмонотоксикантами определяются структурно-функциональными изменениями паренхимы лёгких [Бонитенко Е.Ю., Колбасов С.Е., Мелихова М.В. и др., 2010]. К таким показателям относятся показатели газообмена, потребления кислорода, цитолиза, эндогенной интоксикации и весовой лёгочный коэффициент, свидетельствующий о наличии отёка лёгких.

В качестве токсикометрического параметра в работе избрана среднесмертельная доза (LD_{50}), поскольку она представляет собой наиболее точную количественную характеристику токсичности вещества с минимальным значением 95% доверительного интервала и несомненным оцениваемым эффектом (гибель животного) [Куценко С.А., 2004].

3.1. Моделирование аммиачного отёка лёгких в экспериментах на мышах

Мыши массой 18-20 г помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л. С помощью пароаэрозольного дозатора в камеру подавался аммиак (25% водный раствор) в концентрации 15 мг/л. Время динамической затравки составляло 1 час при температуре +20°C, влажности 70%, атмосферном давлении воздуха и потоке через камеру 10 л/мин. После окончания воздействия для дальнейшего наблюдения экспериментальные животные помещались в клетки. 90% мышей с явлениями ожога дыхательных путей и отёка лёгких погибали в течение 1-1,5 часа после окончания затравки.

3.2. Моделирование аммиачного отёка лёгких в экспериментах на крысах

В опытах на крысах наиболее удобно моделировать условия аварийной ситуации со средним временем пребывания в атмосфере 20 минут. При этом крысы стандартной массы помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л, в которую динамическим способом нагнетался аммиачный аэрозоль в концентрации 20 мг/л. Гибель животных с явлениями бронхообструкции, ларингоспазма и отёка лёгких развивалась в течение 4-6 часов. В этот период крысы находились под наблюдением в клетках. Одним из критериев отёка лёгких служили весовые коэффициенты органов, которые в данном случае увеличивались в 1,5-2 раза.

3.3. Моделирование затравки фосгеном в опытах на крысах

Животные стандартной массы помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л.

В лаборатории фосген получали по способу Эрдмана реакцией дымящейся серной кислоты с четырёххлористым углеродом [Лос К., 1963].

Химизм процесса:



Газ подавался в камеру по трубке с трёхходовым краном. Камера снабжена вентиляторами для равномерного перемешивания воздуха. В таблице 3 представлены показатели летальности и время гибели крыс при температуре +20°C, влажности 70%, атмосферном давлении и расходе воздуха через камеру 10 л/мин.

Наиболее оптимальной моделью для изучения эффективности препаратов оказалась модель при концентрации газа 1,5 мг/л и времени воздействия 1 час. При этом гибель 90% животных от отёка лёгких развивалась в пределах 3 часов после затравки (таблица 3). Уменьшение летальности и увеличение продолжительности жизни могут свидетельствовать о положительном влиянии препарата на течение интоксикации. На этой модели изучены эдемогенный и прооксидантный эффекты фосгена на лёгочную ткань. Для этого у погибших животных определяли весовые коэффициенты лёгких, содержание в них малонового диальдегида (МДА), аскорбиновой кислоты (АК) и восстановленного глутатиона (Г-SH) [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982; Покровский, А.А., 1969]. Результаты представлены в таблице 4.

Выявлено достоверное увеличение весовых коэффициентов лёгких более чем в 3 раза, содержание МДА выросло почти в 1,5 раза, содержание АК снизилось почти в 2 раза, содержание Г-SH снизилось почти в 2,4 раза.

В результате проведенных исследований выявлено, что под воздействием фосгена в данных условиях эксперимента развивался токсический отёк лёгких (по ВКЛ), активизировались процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) (по уровню МДА), а также истощалась антиоксидантная защита лёгких (по содержанию АК и Г-SH). Все эти показатели, имеющие этиологическое и патогенетическое значение в повреждении аэрогематического барьера и развитии отёка лёгких, использованы при оценке эффективности лекарственных средств.

Таблица 3 – Гибель крыс от начала затравки фосгеном при варьировании концентрацией и временем воздействия

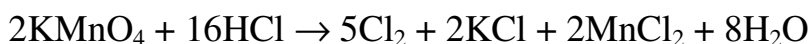
Концентрация, мг/л	Время воздействия, мин	n	Время наблюдения (часы) и количество погибших животных																Эффект, пало/всего
			0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	5	6	7	8	9	10	12	24	
1	30	20	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	2	1	1	0	0	1	10/20
1	60	20	0	0	1	1	2	1	1	3	2								11/20
1	120	20	0	1	1	2	1	3	1	1	1	2							13/20
1,5	30	20	0	1	1	1	2	3	2	2	1	1							14/20
1,5	60	20	1	3	5	5	3	1	0	0	1	1							20/20
2	30	20	0	1	2	3	2	3	3	1	3	2							20/20
3	30	20	2	3	10	5													20/20

Таблица 4 – Весовые коэффициенты лёгких (ВКЛ) (г/кг массы тела), содержание МДА (Нмоль/мг белка), АК (мкг/мг белка), Г-SH (мкг/мг белка) в лёгких крыс, погибших при затравке фосгеном в дозе 1,5 мг/л и времени воздействия 1 час (M±m)

Серия эксперимента	ВКЛ	МДА	АК	Г-SH
Контроль	6,6±0,3	2,94±0,38	3,31±0,15	3,69±0,14
Опыт	20,9±2,1*	4,36±0,32*	1,72±0,16*	1,56±0,16*
Примечание – * – Достоверные отличия от контроля при p < 0,05				

3.4. Моделирование отёка лёгких при затравке мышей хлором

Животные стандартной массы помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л. Хлор для затравки получали реакцией кристаллического перманганата калия с 32% соляной кислотой [Оленин С.С., Фадеев Г.Н., 1979]:



Реакция протекала в тигле внутри камеры при добавлении к расчётному количеству KMnO_4 микропипеткой соляной кислоты. Образующийся хлор перемешивался по всему объёму затравочной камеры вентилятором. При 30 минутной экспозиции и концентрации 1 мг/л 90% мышей погибали в течение 1 часа. При этом весовые коэффициенты лёгких увеличены в 2-3 раза. Контроль содержания хлора в зараженной атмосфере камеры осуществляли после отбора проб спектрофотометрически.

3.5. Моделирование отёка лёгких при затравке крыс хлором

В опытах на крысах моделировали аварийную ситуацию при разных концентрациях хлора и времени воздействия (таблица 5). Выбрана модель затравки при 15-минутном воздействии хлора в концентрации 5 мг/л. При этом 90% подопытных животных погибали в течение 3,5 часов при явлениях отёка лёгких.

Таблица 5 – Исход острой интоксикации хлором у крыс

Концентрация, мг/л	Время воздействия, мин	Время гибели 50% подопытных животных, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг массы тела
0,5	30	24	10/20	10,2±3,6*
1,0	30	10	13/20	12,3±1,4*
5	30	2	20/20	20,4±6,3*
5	15	3,5	20/20	21,5±2,9*
8	30	1,5	20/20	12,3±0,4*
Контроль	—	—	—	6,5±0,5

Примечание – * – Достоверные отличия от контроля при $p < 0,05$

Выбранная модель оказалась оптимальной как по выраженности отёка лёгких, так и по срокам наступления летального эффекта. Уменьшение летальности или увеличение длительности жизни экспериментальных животных наряду с положительной динамикой морфометрических и биохимических показателей под воздействием изучаемых препаратов могут служить основой для их отбора в качестве эдемопротекторных средств.

3.6. Моделирование хронических неспецифических заболеваний лёгких

Для запыления животных использовали мелкодисперсную растительную пыль комбикорма. Динамическое ингаляционное воздействие пылью осуществляли на протяжении 2 месяцев ежедневно по 4 часа в стандартных камерах производства Казанского СКТЬ-МПФ объёмом 100 л. Внутри каждой камеры помещён вентилятор, поддерживающий пылевую атмосферу. Одна камера может обеспечить одновременную ингаляцию до 30 крыс или морских свинок способами «только голова» или «животное целиком». Режим камер — динамический, т.е. обеспечиваются принудительно приток и отток воздуха. Поэтому возможны длительные, в том числе и хронические затравки. Дозируется пыль специальным дозатором вибрационного типа, устанавливаемом над отверстием в крышке камеры.

Каждая экспериментальная группа включала по 10 крыс одного пола средней массы 180-200 г. Комбикорм предварительно растирали до мелкопылевой дисперсности (типа пудры). Подача воздуха в камеры составляла 60 л/мин. С помощью пылевых распылителей марки РПВ в каждой камере достигали концентрации пыли, приблизительно равные 10 мг/м^3 , которые контролировали гравиметрически путём взвешивания фильтров марки ФП с рабочей площадью 10 см^2 после прохождения воздуха через фильтр с объёмной скоростью 20 л/мин в течение 20 минут.

Для усиления сенсibilизации с целью провоцирования бронхиальной обструкции животным опытных и контрольной групп осуществлялось подкожное введение сывороточного альбумина в дозе 0,1 мг/кг с 1 по 45 день затравки с

интервалом в 2 суток. Группе интактных крыс, ежедневно помещаемых на 4 часа в камеру без запыления, подкожно вводился физиологический раствор в том же объеме — 0,1 мл/100 г. На 46 день сенсibilизации животные всех групп, исключая интактных, подвергались ингаляционному воздействию аэрозоля сывороточного альбумина в концентрации 0,5 мг/м³ в течение 5 минут. Это сопровождалось развитием практически у всех крыс выраженной экспираторной одышки. Если контакт с антигеном не прекращали, то животные погибали в камере в течение 20 минут в асфиктических судорогах. Поэтому сразу после 5 минутного ингаляционного воздействия сывороточным альбумином крысы извлекались из камеры.

Все группы животных рандомизированы по полу и массе и пронумерованы:

1 — интактная (n = 10);

2 — контрольная (n = 20) – запыление + сенсibilизация;

3 — опытная (n = 10) — запыление + сенсibilизация + «Сальбуфен» в дозе 25 мг/кг.

ГЛАВА 4. ОТБОР ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ОЦЕНКА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ПРИ МОНОТЕРАПИИ И СОЧЕТАННОМ ЛЕЧЕБНОМ ПРИМЕНЕНИИ

4.1. Отбор для экспериментального изучения фармакологических антагонистов хлора, аммиака и фосгена

Проведенный анализ литературных данных по способам лечения ингаляционных поражений пульмонотоксикантами на основе современных представлений о механизме пульмонотоксичности аммиака, хлора и фосгена, а также анализ фармацевтического рынка позволили отобрать и составить перечень лекарственных средств для оценки их эффективности в модельных экспериментах. В перечень, представленный ниже, вошли: β_2 -адреномиметики в виде ингаляций, кортикостероиды в виде инъекций, спазмолитики (эуфиллин) и н-холинолитики (педифен).

Отбор препаратов осуществлен на основании того, что они купируют основные патогенетические синдромы интоксикации пульмонотоксикантами — бронхообтурационный и отёчный [Плужников Н.Н., Чепур С.В., Нечипоренко С.П., Петров А.Н., Шибанов Е.А., Быков В.Н., Верстакова О.Л., Сюбаев Р.Д., 2007].

4.1.1. Фармакологические свойства отобранных препаратов

Беротек Н (МНН: Фенотерол)

Бронхолитический препарат, селективный стимулятор β_2 -адренорецепторов.

При применении препарата в более высоких дозах происходит стимуляция β_1 -адренорецепторов (например, при назначении для токолитической терапии). Связывание β_2 -адренорецепторов активирует аденилатциклазу через

стимуляторный G_s -белок с последующим увеличением образования цАМФ, который активирует протеинкиназу А, последняя лишает миозин способности соединяться с актином, что препятствует сокращению гладкой мускулатуры и способствует бронхолитическому действию и устранению бронхоспазма.

Кроме того, фенотерол тормозит высвобождение из тучных клеток медиаторов воспаления, тем самым оказывая защитное действие от влияния таких бронхоконстрикторов, как гистамин, метахолин, холодный воздух и аллергены. Прием фенотерола в дозе 600 мкг повышает активность мерцательного эпителия бронхов и ускоряет мукоцилиарный транспорт.

За счет стимулирующего влияния на β -адренорецепторы, фенотерол может оказывать действие на миокард (особенно в дозах, превышающих терапевтические), вызывая учащение и усиление сердечных сокращений.

Фенотерол предупреждает и быстро купирует бронхоспазм различного генеза. Начало действия после ингаляции — через 5 минут, максимум — 30-90 минут, продолжительность — 3-5 часов.

В зависимости от метода ингаляции и используемой ингаляционной системы 10-30% активного вещества, освобождаемого из аэрозольной формы препарата после ингаляции, достигает нижних дыхательных путей, а остальная часть депонируется в верхних дыхательных путях и проглатывается. Эта доля активного вещества подвергается биотрансформации вследствие эффекта «первичного» прохождения через печень. Таким образом, проглоченное количество препарата не оказывает влияния на концентрацию активного вещества в плазме крови, достигаемую после ингаляции [Справочник лекарственных средств Vidal].

Сальбутамол

Бета-адреномиметик с преимущественным влиянием на β_2 -адренорецепторы (локализующиеся, в частности, в бронхах, миометрии, кровеносных сосудах). Предупреждает и купирует бронхоспазм; снижает сопротивление в дыхательных путях, увеличивает жизненную ёмкость лёгких. Предотвращает выделение гистамина, медленно реагирующей субстанции из тучных клеток и факторов

хемотаксиса нейтрофилов. По сравнению с другими препаратами этой группы оказывает менее выраженное положительное хроно- и инотропное влияние на миокард. Вызывает расширение коронарных артерий, практически не снижает АД. Оказывает токолитическое действие, понижая тонус и сократительную активность миометрии.

При применении аэрозоля наблюдается быстрое всасывание сальбутамола в кровь; однако его концентрации в плазме крови при применении в рекомендуемых дозах очень низкие или не достигают предела обнаружения.

После приема внутрь сальбутамол хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Связывание с белками плазмы составляет 10%. Метаболизируется при «первом прохождении» через печень и, возможно, в стенке кишечника; основной метаболит — неактивный сульфатный конъюгат. Сальбутамол не метаболизируется в лёгких, таким образом его конечный метаболизм и выведение после ингаляции зависит от способа применения, который определяет соотношение между вдыхаемым и ненамеренно проглоченным сальбутамолом.

$T_{1/2}$ из плазмы крови составляет 2-7 часов. Сальбутамол быстро выводится с мочой в виде метаболитов и неизмененного вещества; в небольших количествах выводится с калом [Справочник лекарственных средств Vidal].

Преднизолон

Глюкокортикостероид. Подавляет функции лейкоцитов и тканевых макрофагов. Ограничивает миграцию лейкоцитов в область воспаления. Нарушает способность макрофагов к фагоцитозу, а также к образованию интерлейкина-1. Способствует стабилизации лизосомальных мембран, снижая тем самым концентрацию протеолитических ферментов в области воспаления. Уменьшает проницаемость капилляров, обусловленную высвобождением гистамина. Подавляет активность фибробластов и образование коллагена.

Ингибирует активность фосфолипазы A_2 , что приводит к подавлению синтеза простагландинов и лейкотриенов. Подавляет высвобождение

циклооксигеназы (ЦОГ) (главным образом ЦОГ-2), что также способствует уменьшению выработки простагландинов.

Уменьшает число циркулирующих лимфоцитов (Т- и В-клеток), моноцитов, эозинофилов и базофилов вследствие их перемещения из сосудистого русла в лимфоидную ткань; подавляет образование антител.

Преднизолон подавляет высвобождение гипофизом адренокортикотропного гормона (АКТГ) и β -липотропина, но не снижает уровень циркулирующего β -эндорфина. Угнетает секрецию тиреотропного гормона (ТТГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ).

При непосредственной аппликации на сосуды оказывает вазоконстрикторный эффект.

Преднизолон обладает выраженным дозозависимым действием на метаболизм углеводов, белков и жиров. Стимулирует глюконеогенез, способствует захвату аминокислот печенью и почками и повышает активность ферментов глюконеогенеза. В печени преднизолон усиливает депонирование гликогена, стимулируя активность гликогенсинтетазы и синтез глюкозы из продуктов белкового обмена. Повышение содержания глюкозы в крови активизирует выделение инсулина.

Преднизолон подавляет захват глюкозы жировыми клетками, что приводит к активации липолиза. Однако вследствие увеличения секреции инсулина происходит стимуляция липогенеза, что способствует накоплению жира.

Оказывает катаболическое действие в лимфоидной и соединительной ткани, мышцах, жировой ткани, коже, костной ткани. В меньшей степени чем гидрокортизон, влияет на процессы водно-электролитного обмена: способствует выведению ионов калия и кальция, задержке в организме ионов натрия и воды. Остеопороз и синдром Иценко-Кушинга являются главными факторами, ограничивающими длительную терапию глюкокортикостероидами (ГКС). В результате катаболического действия возможно подавление роста у детей.

В высоких дозах преднизолон может повышать возбудимость тканей мозга и способствует понижению порога судорожной готовности. Стимулирует

избыточную продукцию соляной кислоты и пепсина в желудке, что приводит к развитию пептической язвы.

При системном применении терапевтическая активность преднизолона обусловлена противовоспалительным, противоаллергическим, иммунодепрессивным и антипролиферативным действием.

При наружном и местном применении терапевтическая активность преднизолона обусловлена противовоспалительным, противоаллергическим и антиэкссудативным (благодаря вазоконстрикторному эффекту) действием.

По сравнению с гидрокортизоном противовоспалительная активность преднизолона в 4 раза больше, минералокортикоидная активность в 0,6 раза меньше [Справочник лекарственных средств Vidal].

Эуфиллин (МНН: Аминофиллин)

Бронхолитическое средство, ингибитор фосфодиэстеразы (ФДЭ). Представляет собой этилендиаминовую соль теофиллина (что облегчает растворимость и увеличивает абсорбцию). Оказывает бронхорасширяющее действие, обусловленное, по-видимому, прямым расслабляющим влиянием на гладкую мускулатуру дыхательных путей и кровеносных сосудов лёгких. Полагают, что это действие вызвано избирательным подавлением активности специфических ФДЭ, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ. Результаты экспериментальных исследований *in vitro* показывают, что основную роль, по-видимому, играют изоферменты III и IV типов. Подавление активности этих изоферментов может также вызывать некоторые побочные эффекты аминофиллина (теофиллина), в т.ч. рвоту, артериальную гипотензию и тахикардию. Блокирует аденозиновые (пуриновые) рецепторы, что может быть одним из факторов действия на бронхи.

Уменьшает гиперреактивность дыхательных путей, связанную с поздней фазой реакции, вызываемой вдыханием аллергенов, посредством неизвестного механизма, который не относится к ингибированию ФДЭ или к блокаде действия аденозина. Имеются сообщения о том, что аминофиллин увеличивает число и активность Т-супрессоров в периферической крови.

Повышает мукоцилиарный клиренс, стимулирует сокращение диафрагмы, улучшает функцию дыхательных и межрёберных мышц, стимулирует дыхательный центр, повышает его чувствительность к углекислому газу и улучшает альвеолярную вентиляцию, что в конечном итоге приводит к снижению тяжести и частоты эпизодов апноэ. Нормализуя дыхательную функцию, способствует насыщению крови кислородом и снижению концентрации углекислоты. Усиливает вентиляцию лёгких в условиях гипокалиемии.

Оказывает стимулирующее влияние на деятельность сердца, увеличивает силу и ЧСС, увеличивает коронарный кровоток и повышает потребность миокарда в кислороде. Снижает тонус кровеносных сосудов (главным образом сосудов мозга, кожи и почек). Оказывает периферическое венодилатирующее действие, уменьшает лёгочное сосудистое сопротивление, понижает давление в малом круге кровообращения. Увеличивает почечный кровоток, оказывает умеренный диуретический эффект. Расширяет внепечёночные желчные пути. Стабилизирует мембраны тучных клеток, тормозит высвобождение медиаторов аллергических реакций. Тормозит агрегацию тромбоцитов (подавляет фактор активации тромбоцитов и $PgE_{2\alpha}$), повышает устойчивость эритроцитов к деформации (улучшает реологические свойства крови), уменьшает тромбообразование и нормализует микроциркуляцию. Обладает токолитическим действием, повышает кислотность желудочного сока. В высоких дозах обладает эпилептогенным действием.

В организме аминофиллин метаболизируется при физиологических значениях рН с высвобождением свободного теофиллина. Бронходилатирующие свойства проявляются при концентрациях теофиллина в плазме крови 10-20 мкг/мл. Концентрация свыше 20 мг/мл является токсической. Возбуждающий эффект на дыхательный центр реализуется при более низкой концентрации — 5-10 мкг/мл [Справочник лекарственных средств Vidal].

Педифен

Педифен является селективным Н-холинолитиком с антиоксидантными свойствами. В опытах *in vitro* было показано, что педифен примерно в 10 раз

превосходит аскорбиновую кислоту, уступая по активности токоферолу. Введение педифена «интактным» животным сопровождается снижением свободно-радикального окисления тканей и повышением их антиокислительной активности. Предупреждает активацию перекисного окисления липидов [Зацепин Э.П., Чураев Н.Н., 1987]. У педифена обнаружены и мембраностабилизирующие свойства, которые, возможно, также связаны с его антиокислительной активностью [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Центральный Н-холинолитик педифен снижает антителопродукцию и уменьшает выраженность аллергических реакций [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2007].

Обладает стимулирующим воздействием на центральную нервную систему, выраженной спазмолитической активностью, превышая папаверин в 6,5 раз по данному показателю [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Обладает выраженным местноанестезирующим действием. При изучении терминальной анестезии установлено, что по активности он не уступает дикаину, а при проводниковой превосходит новокаин [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Максимум концентрации при ингаляционном применении C_{\max} достигается через 0,6 часа и составляет порядка 7,7 мкг/мл.

Период полувыведения $T_{1/2}$ составляет порядка 1,4 часа.

Общее среднее время присутствия педифена в организме — показатель MRT составляет порядка 4,9 часа.

Величина кажущегося стационарного объема распределения — показатель V_{ss} — составляет порядка 300 мл/кг.

Свидетельств о накоплении препарата в организме и возможности кумуляции не выявлено.

Таблица 6 – Перечень фармакологических антагонистов хлора, аммиака и фосгена, отобранных для экспериментального изучения

№ п/п	Название препарата, лекарственная форма	Фармакологическая группа	Производитель
1.	Беротек Н, аэрозоль для ингаляций дозированный	β_2 -адреномиметик	Берингер Ингельхайм Фарма ГмбХ и Ко. КГ, Германия
2.	Сальбутамол, аэрозоль для ингаляций дозированный	β_2 -адреномиметик	ЗАО «Алтайвитамины»
3.	Преднизолон, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 25 мг/мл	Глюкокортикостероид	Никомед Австрия ГмбХ, Австрия
4.	Эуфиллин, раствор для внутримышечного введения 240 мг/мл	Спазмолитик	ОАО «Дальхимфарм»
5.	Педифен, спрей 2,5 мг/мл [Беловолов А.Ю. и др., 2013]	Н-холинолитик	ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России

4.2. Оценка эффективности выбранных лекарственных средств при монотерапии

Хроноконцентрационные модели острых тяжёлых поражений пульмонотоксикантами разработаны ранее для наиболее актуальных СДЯВ: аммиака, фосгена и хлора. При этом животные целиком помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л, куда в динамическом или статическом режимах подавались токсичные пары или аэрозоли. Дозирование осуществлялось гравиметрически с учётом обычных потерь на оседание и адгезию — 25-30% для газов и аэрозолей. Контроль истинных концентраций проводился после отбора проб заражённого воздуха химико-аналитическими методами.

4.2.1. Аммиачный отёк лёгких

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 литров, в которую динамическим способом нагнетался аммиачный аэрозоль в концентрации 20 мг/л. Концентрация 20 мг/л при 20 минутном воздействии составляет приблизительно 1,5-2 LC₅₀. Затем контрольные животные извлекались из камеры в садки для последующего наблюдения, а экспериментальные группы подвергались лечебному воздействию препаратов. После этого экспериментальные животные также помещались в садки для наблюдения.

Результаты эксперимента представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Лечебное действие отобранных препаратов при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс аммиаком

№ п/п	Условия эксперимента	Время гибели 50% животных, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг массы тела	ЧД, мин ⁻¹	Вдох/выдох	qO ₂ , мкмоль/кг	АД, мм Нг	ЧСС, мин ⁻¹	СПП, В	«открытое поле», латентный период, с	СДА, Кол-во актов	Мышечная сила, г
1.	Интактные животные	—	—	6,5±0,5	98±12	1,20±0,05	6,2±0,2	116±10	390±20	9,3±0,4	14,5±0,5	165±15	420±20
2.	Контроль	1,5	10/10	19,5±1,5*	56±8*	0,62±0,05*	2,1±0,6*	86±6*	310±15*	14,2±0,2*	25,3±0,6*	85±13*	260±15*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг	12	6/10	9,5±2,5	106±15	1,10±0,04	5,6±0,1*	110±8	350±17	10,5±0,3	21,7±0,3*	143±11	390±15*
4.	Преднизолон в/м 5 мг/кг	10	7/10	9,7±2,8	99±10	0,95±0,04*	5,4±0,1*	115±5	360±15	12,4±0,2*	18,5±0,5*	136±10*	370±20*
5.	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	8	7/10	9,8±1,7	90±8	0,98±0,02*	5,8±0,3	118±7	395±10	11,6±0,3*	19,2±0,3*	127±7*	350±15*
6.	Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	8	7/10	9,6±1,4	92±7	0,99±0,01*	6,1±0,2	120±12	410±8	11,5±0,2*	18,6±0,2*	130±10*	365±12*
7.	Беротек ингаляционно 1 мг/кг	6	8/10	10,5±1,8*	88±6	0,86±0,02*	5,5±0,1*	98±11	380±13	13,5±0,1*	20,5±0,5*	120±13*	350±10*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при p < 0,05													

Через 15 минут от начала затравки у всех животных отмечались выраженные симптомы раздражения глаз, открытых участков кожи и верхних дыхательных путей, которые сочетались с заторможенностью, сопором и боковым положением тела. Через 20-30 минут наблюдались атаксия, мышечные подёргивания и тремор головы. У части животных отмечались короткие периоды двигательного возбуждения с развитием быстро проходящих клонических судорожных приступов. Через 40-45 минут наблюдалась гибель отдельных контрольных особей при явлениях паралича и остановки дыхания.

При гистологическом исследовании в лёгких контрольных животных выявлялся венозный стаз, альвеолярный отёк, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния. Все контрольные животные погибли в течение 2-3,5 часов после затравки. При вскрытии и гистологическом исследовании подопытных животных, которых лечили отобранными лекарственными препаратами, в лёгких отмечалось венозное полнокровие, субплевральные точечные кровоизлияния и начальный интерстициальный отёк.

Следовательно, применение отобранных препаратов при тяжёлой интоксикации крыс аммиаком повышает выживаемость животных, облегчает течение интоксикации и уменьшает гидратацию лёгочной ткани. Кроме этого, применение препаратов положительно сказывалось на состоянии сердечно-сосудистой, дыхательной систем и потреблении кислорода. Восстанавливалась деятельность нервной системы и нервно-мышечного сопряжения.

**По лечебной эффективности препараты выстроились в следующий ряд:
эуфиллин > преднизолон > сальбутамол > педифен > беротек.**

По эффективности и возможности использования в ингаляционной лекарственной форме наиболее предпочтительными оказались β_2 -адреномиметик сальбутамол и Н-холинолитик педифен.

4.2.2. Интоксикация крыс хлором

Ингаляционное воздействие хлора на крыс осуществляли в течение 15 минут в концентрации 5 мг/л. Препараты применяли в тех же дозах и по той же схеме, как в опыте с аммиаком. Результаты представлены в таблице 8.

Применение препаратов благоприятно сказывалось на течении и исходе интоксикации: на 40% повысилась выживаемость животных, увеличилась продолжительность жизни погибающих особей с параллельным снижением почти в 2 раза уровня гидратации лёгких. В данном случае можно также предположить, что препараты предотвращают или уменьшают степень выраженности токсического отёка лёгких. Препараты в разной степени обеспечивали достаточную полноту лечебного эффекта, нормализуя деятельность дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем.

**По лечебной эффективности препараты выстроились в следующий ряд:
эуфиллин > преднизолон > сальбутамол > педифен > беротек.**

По эффективности и возможности использования в ингаляционной лекарственной форме наиболее предпочтительными оказались β_2 -адреномиметик сальбутамол и Н-холинолитик педифен.

Таблица 8 – Лечебное действие отобранных препаратов при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс хлором

№ п/п	Условия эксперимента	Время гибели 50% животных, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг массы тела	ЧД, мин ⁻¹	Вдох/выдох	qO ₂ , мкмоль/кг	АД, мм Hg	ЧСС, мин ⁻¹	СПП, В	«открытое поле», латентный период, с	СДА, Кол-во актов	Мышечная сила, г
1.	Интактные животные	—	—	6,5±0,5	98±12	1,20±0,05	6,2±0,2	116±10	390±20	9,3±0,4	14,5±0,5	165±15	420±20
2.	Контроль	3,5	10/10	21,5±2,9*	56±8*	0,61±0,05*	1,5±0,3*	87±5*	317±15*	13,2±0,2*	25,2±0,5*	84±13*	261±14*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг	12	6/10	10,2±1,5	104±15	1,10±0,04	5,5±0,1*	107±8	343±16	10,4±0,2	20,6±0,3*	142±10	383±14*
4.	Преднизолон в/м 5 мг/кг	11	7/10	10,3±1,2*	99±9	0,96±0,04*	4,4±0,1*	114±4	367±15	12,3±0,2*	18,5±0,4*	136±10*	368±20*
5.	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	9	7/10	10,4±1,6*	90±8	0,97±0,10*	4,7±0,2	117±6	397±10	10,6±0,3*	18,1±0,2*	128±7*	355±14*
6.	Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	9	7/10	11,2±1,8*	90±6	0,98±0,02*	5,0±0,1	119±11	414±8	11,4±0,1*	17,5±0,1*	127±10*	358±12*
7.	Беротек ингаляционно 1 мг/кг	6	8/10	12,3±1,7*	86±5	0,87±0,10*	4,5±0,2*	97±10	376±12	12,4±0,1*	20,5±0,5*	117±13*	348±10*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при p < 0,05													

4.2.3. Токсический отёк лёгких, вызванный фосгеном

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л, в которую подавался фосген в концентрации 1,5 мг/л в течение 1 часа. Далее контрольных животных извлекали из камеры и помещали в садки для наблюдения, а экспериментальных животных подвергали лечебному воздействию. У погибших и выживших животных определяли ВКЛ, МДА, АК, Г-SH лёгких и полноту лечебного эффекта по состоянию основных систем организма и интенсивности потребления кислорода. Результаты представлены в таблицах 9 и 10.

Они свидетельствуют о высокой эффективности лечебного применения всех препаратов.

В контрольной группе при вскрытии после эвтаназии выживших животных через сутки отмечались: венозный стаз, отёк лёгких, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния, к которым присоединялись бронхопневмонии с ателектазами и компенсаторной эмфиземой лёгких.

При вскрытии погибших и выживших животных после лечения препаратами в лёгких наблюдались менее выраженные изменения: незначительные признаки интерстициального отёка и венозного стаза с единичными точечными субплевральными кровоизлияниями. При этом не наблюдалось отёка альвеол, инфарктов лёгких, ателектазов, эмфиземы и пневмоний. Эти данные подтверждались величинами ВКЛ, которые в случае лечения почти не отличались от интактной группы.

Обращают на себя внимание показатели ПОЛ и антирадикальной защиты лёгких при лечении. Препараты достоверно тормозили активацию процессов ПОЛ и повышали уровень антиоксидантной защиты лёгких, в особенности Г-SH.

**По лечебной эффективности препараты выстроились в следующий ряд:
эуфиллин > преднизолон > сальбутамол > педифен > беротек.**

По эффективности и возможности использования в ингаляционной лекарственной форме наиболее предпочтительными оказались β_2 -адреномиметик сальбутамол и Н-холинолитик педифен.

Таблица 9 – Лечебное действие отобранных препаратов при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс фосгеном

№ п/п	Условия эксперимента	ЧД, мин ⁻¹	Вдох/выдох	qO ₂ , мкмоль/кг	АД, мм Нг	ЧСС, мин ⁻¹	СПП, В	«открытое поле», латентный период, с	СДА, Кол-во актов	Мышечная сила, г
1.	Интактные животные	98±12	1,20±0,05	6,2±0,2	116±10	390±20	9,3±0,4	14,5±0,5	165±15	420±20
2.	Контроль	56±7*	0,60±0,05*	1,4±0,2*	88±4*	312±6*	13,2±0,1*	25,1±0,4*	82±13*	259±13*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг	102±14	0,90±0,04	5,4±0,1*	104±8	346±15	9,3±0,2	20,6±0,3*	140±9	381±14*
4.	Преднизолон в/м 5 мг/кг	97±9	0,94±0,06*	4,3±0,2*	112±4	360±15	12,3±0,2*	17,5±0,4*	137±9*	361±19*
5.	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	89±8	0,97±0,10*	4,7±0,1	119±6	400±9	9,5±0,3*	17,0±0,2*	130±6*	349±14*
6.	Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	89±5	0,96±0,10*	5,0±0,1	117±11	409±7	10,3±0,1*	17,4±0,1*	128±10*	356±11*
7.	Беротек ингаляционно 1 мг/кг	85±4	0,86±0,05*	35,3±0,2*	3,5±0,2*	98±10	371±12	11,3±0,1*	19,4±0,4*	117±12*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при p < 0,05										

Таблица 10 – ВКЛ (г/кг массы тела), содержание МДА (Нмоль/мг белка), АК (мкг/мг белка), Г-SH (мкг/мг белка) в лёгких крыс и эффективность препаратов при острой тяжёлой заправке фосгеном ($M \pm m$)

Условия эксперимента	Эффект через сутки, пало/всего	Время гибели 50% животных	ВКЛ	МДА	АК	Г-SH
Интактные	—	—	6,5±0,5	2,84±0,35	3,25±0,16	3,68±0,14
Контроль	6/10	6 часов	21,8±2,5*	4,35±0,26*	1,65±0,22*	1,55±0,21*
Эуфиллин в/м 10 мг/кг	2/10	—	10,5±1,4*	3,31±0,20*	2,17±0,26*	1,69±0,22*
Преднизолон в/м 5 мг/кг	2/10	—	11,1±1,3*	3,25±0,24*	2,18±0,32*	1,72±0,22*
Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	2/10	—	10,3±1,5*	3,31±0,19*	2,19±0,26*	1,66±0,23*
Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	2/10	—	11,5±1,6*	3,29±0,20*	2,17±0,30*	1,71±0,25*
Беротек ингаляционно 1 мг/кг	3/10	—	12,7±1,3*	3,28±0,23*	2,15±0,33*	1,69±0,24*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$						

4.2.4. Эффективность профилактического применения отобранных лекарственных препаратов при поражении аммиаком

В предыдущих разделах изучена эффективность отобранных лекарственных средств при лечебном применении. Препараты применялись в дозах, рекомендованных для человека и экстраполированных на крыс с коэффициентом 5,9. Оценка эффективности и переносимости препаратов проводилась по комплексу показателей: динамике симптомов, выживаемости, степени гидратации лёгких, показателям пневмотахограммы, реограммы, кардиограммы, биохимическим показателям активности антиокислительной системы лёгких.

**По лечебной эффективности препараты выстроились в следующий ряд:
эуфиллин > преднизолон > сальбутамол > педифен > беротек.**

Вместе с тем, интересным и важным представлялось изучить профилактическую эффективность отобранных лекарственных средств, так как подобная ситуация может сложиться при угрозе аварии на производстве или террористического акта. Данное исследование выполнено на примере поражений аммиаком. Препараты применялись за полчаса до затравки в указанных выше дозах. Ингаляционные средства применялись по специальной методике, гарантирующей поступление лекарства на вдохе (рисунок 3).

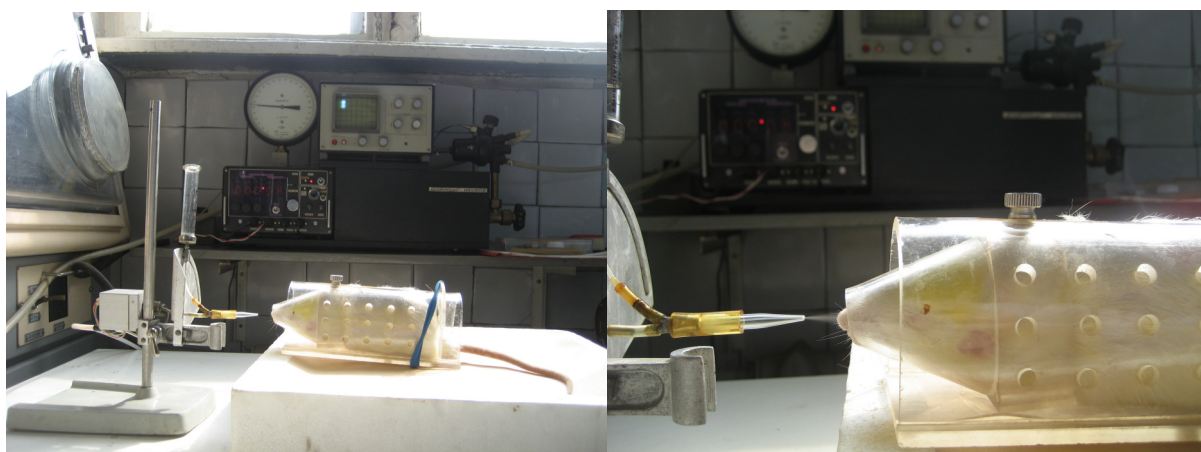


Рисунок 3 – Ингаляционное введение лекарств

Регистрацию показателей функции внешнего дыхания у крыс проводили с помощью системы исследования функции дыхания в составе комплекса для

электрофизиологических исследований (Полиграф) MP150WSW «BIOPAC Systems, Inc.» (США) (рисунок 4).



Рисунок 4 – Регистрация показателей функции внешнего дыхания у крыс
Ингаляция парами аммиака, полученными диспергацией из 15 мл жидкого аммиака в камере объёмом 100 л, в течение 10 минут осуществлялась в статическом режиме. Токсодоза соответствовала LC₅₀. Результаты представлены в таблице 11.

По профилактической эффективности препараты расположились в следующий ряд:

преднизолон > эуфиллин > педифен > сальбутамол > беротек.

Видно, что эффективность препаратов при лечебном применении отличается от их эффективности при профилактическом назначении. Это свидетельствует в пользу необходимости дальнейшего изучения механизмов терапевтического действия. Результаты экспериментов иллюстрируются рисунками 5-11.

Таблица 11 – Эффективность профилактического применения отобранных препаратов при острой тяжёлой ингаляционной заправке крыс аммиаком

Условия эксперимента	Частота дыхания в минуту	Соотношение вдох/выдох	Выживаемость, гибель/всего в группе (из них гибель через сутки)
Интактные животные	158	1,18	0/10
Контроль	110	0,57	5/10 (2 через сутки)
Эуфиллин в/м 10 мг/кг	133	1,10	2/10 (1 после лечения через сутки)
Преднизолон в/м 5 мг/кг	132	0,96	2/10 (1 после лечения через сутки)
Беротек ингаляционно 1 мг/кг	124	0,85	6/10 (6 после лечения через сутки)
Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	120	0,80	3/10 (3 после лечения через сутки)
Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	116	0,63	4/10 (3 после лечения через сутки)

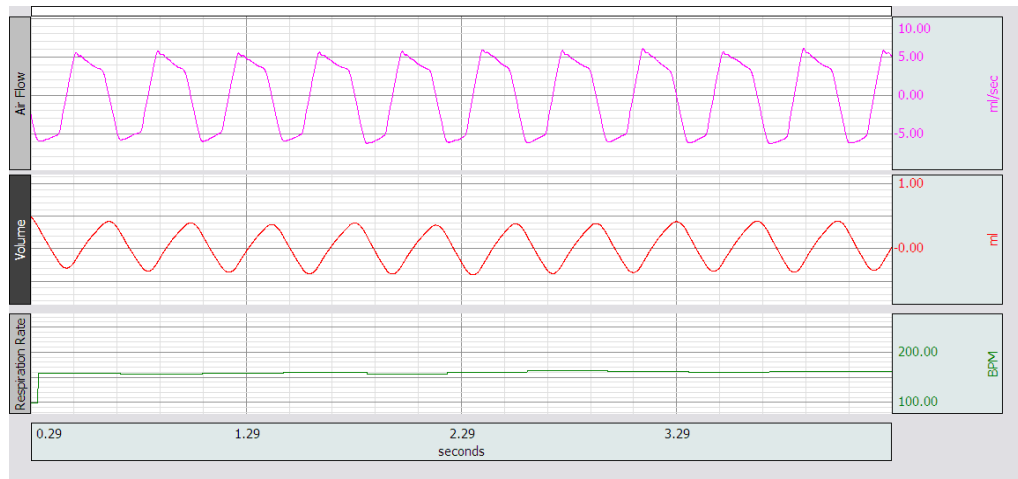


Рисунок 5 – Пневмотахограмма (верхняя кривая), спирограмма (средняя кривая) и кривая частоты дыхания (нижняя кривая) интактной крысы

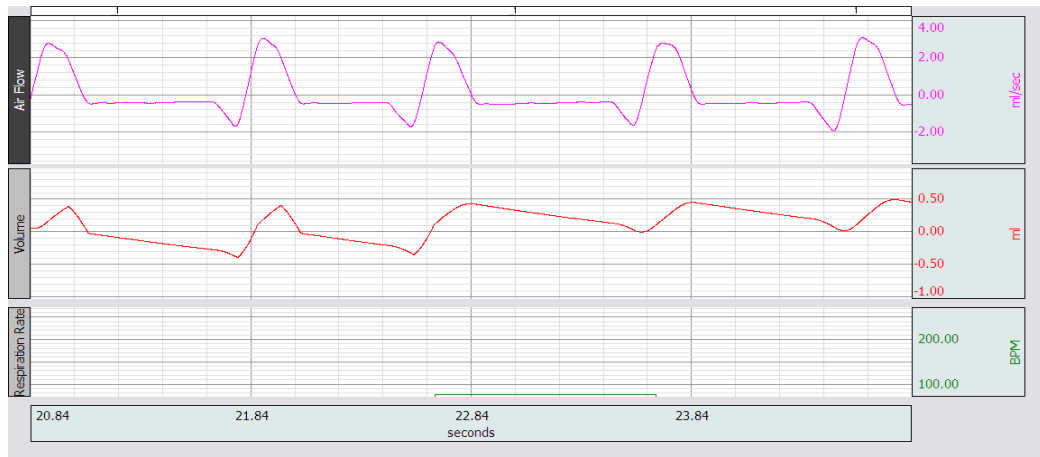


Рисунок 6 – Контрольная крыса через 1 час поле затравки аммиаком

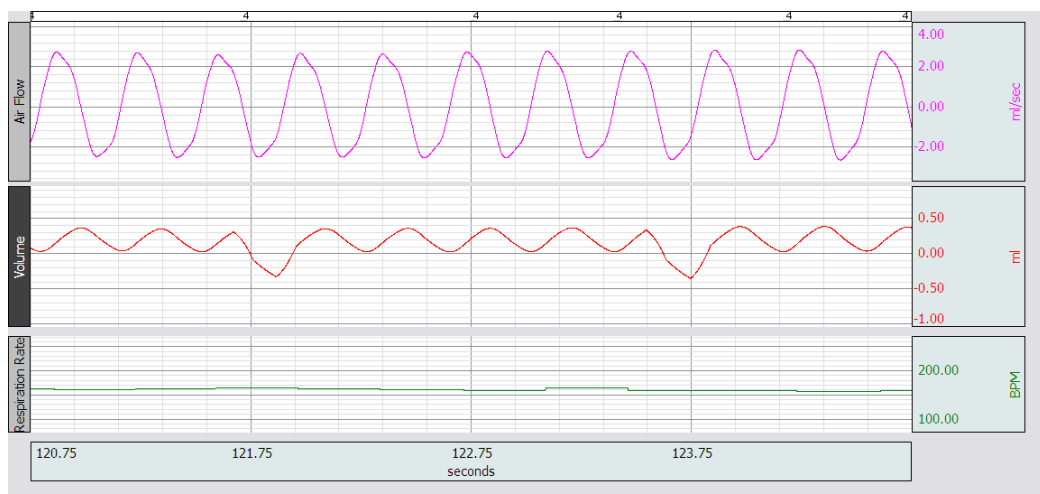


Рисунок 7 – Применение эуфиллина

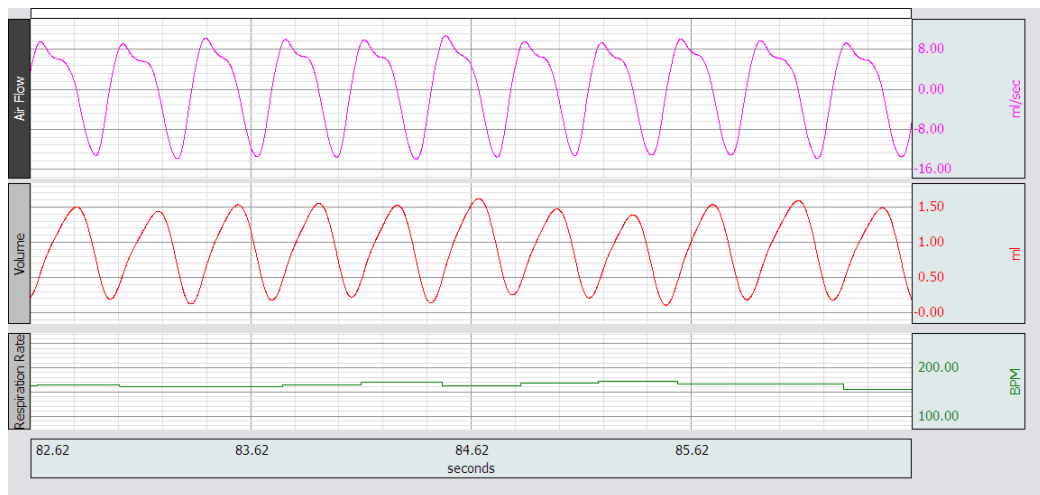


Рисунок 8 – Применение преднизолона

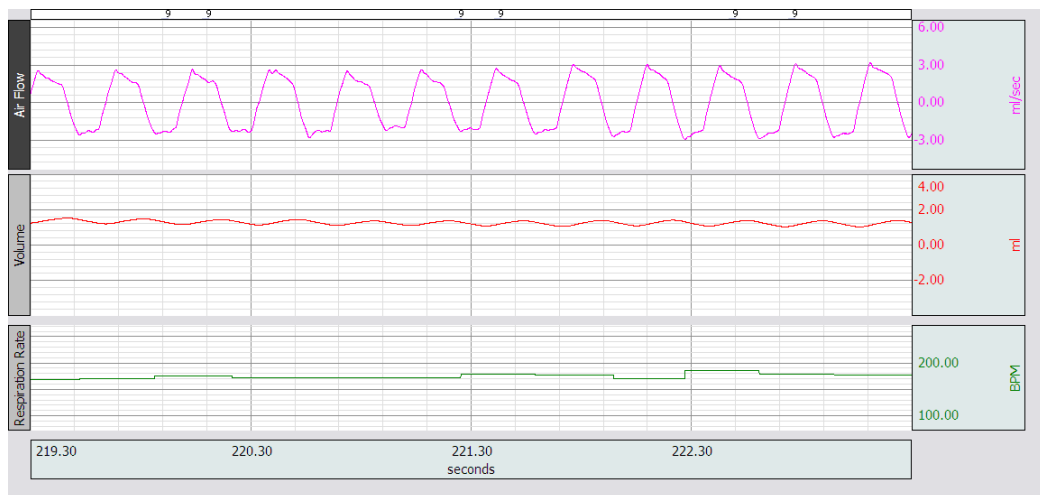


Рисунок 9 – Применение беротека

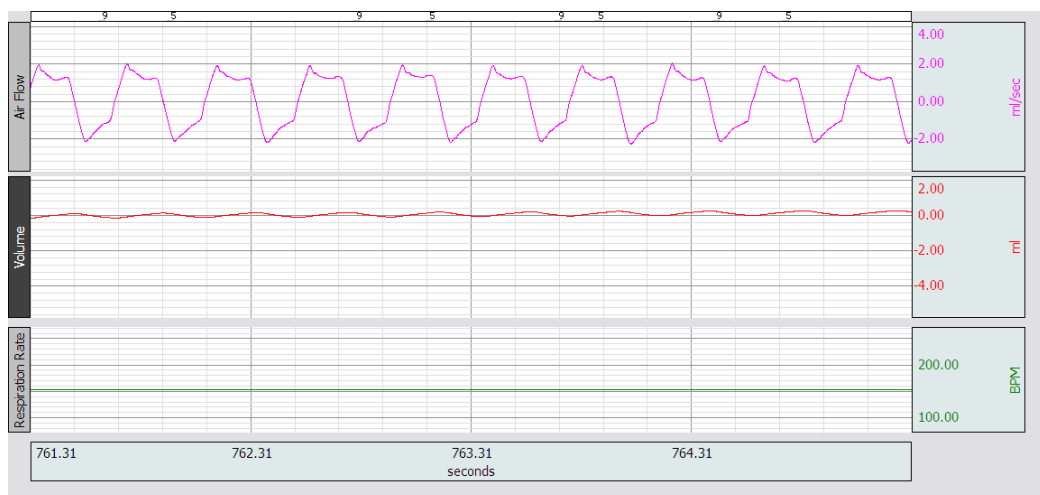


Рисунок 10 – Применение педифена

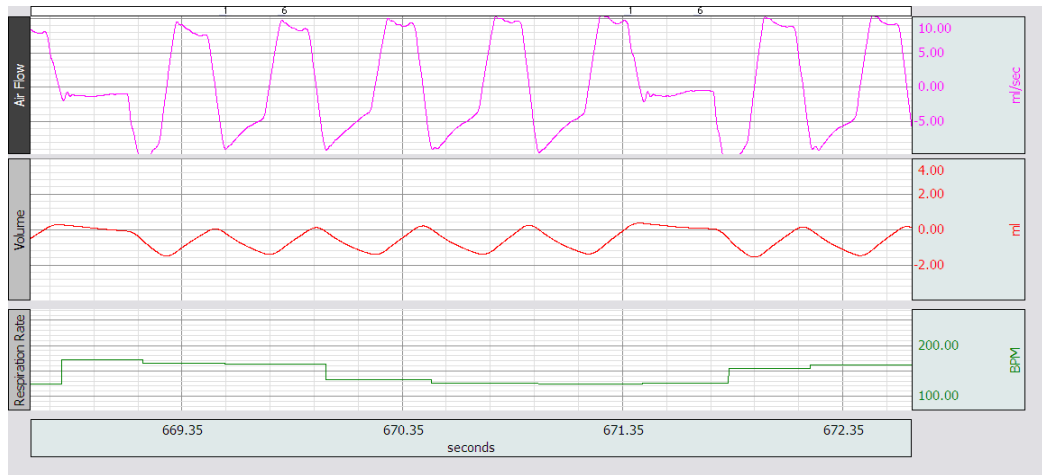


Рисунок 11 – Применение сальбутамола

4.3. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов

Из литературы известно, что экспериментальные ключевые показатели эффективности применения лекарственных средств при поражениях пульмонотоксикантами определяются структурно-функциональными изменениями паренхимы лёгких [Бонитенко Е.Ю., Колбасов С.Е., Мелихова М.В. и др., 2010]. К таким показателям относятся: показатель потребления кислорода, цитолиза, токсемии или показатели эндогенной интоксикации и весовой лёгочный коэффициент, свидетельствующий о наличии отёка лёгких. Все эти показатели кроме последнего могут определяться у пострадавших людей и имеют, таким образом, диагностическое и прогностическое значение.

Помимо определения роли ключевых показателей в эффективности применения отобранных лекарственных средств при лечении пульмонотоксикантами в ходе выполнения данной диссертационной работы учтены рекомендации специалистов ФМБА России и изучены механизмы протекторного действия наиболее активных препаратов при их сочетанном применении.

4.3.1. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении аммиаком

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 литров, в которую динамическим способом нагнетался аммиачный аэрозоль в концентрации 20 мг/л в течение 20 минут. Далее контрольные животные извлекались из камеры в садки для исследования и последующего наблюдения, а экспериментальные группы подвергались лечебному воздействию комбинации наиболее активных препаратов, отобранных на предыдущих этапах выполнения работы. Препараты вводились последовательно сразу один за другим. После этого

экспериментальные животные также помещались в садки для исследования. Показатели фиксировали через 2 часа после отравления.

Результаты эксперимента представлены в таблице 12.

Следует отметить, что через 10 минут от начала затравки у всех животных отмечались ярко выраженные симптомы раздражения глаз, открытых участков кожи и верхних дыхательных путей, которые сочетались с заторможенностью, сопором и боковым положением тела. Через 20-30 минут наблюдались атаксия, мышечные подёргивания и тремор головы. У части животных в это время отмечались короткие периоды двигательного возбуждения с развитием быстро проходящих клонических судорожных приступов. Через 1,5-2 часа наблюдалась гибель контрольных особей при явлениях паралича и остановки дыхания.

При назначении препаратов гибель части животных наступала значительно позже, а ключевые показатели эффективности были значительно лучше, чем таковые у контрольных животных.

Гистологически в лёгких контрольных животных выявлялся венозный стаз и альвеолярный отёк, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния. Все контрольные животные погибли в течение суток после затравки.

При вскрытии через 7 дней после затравки и гистологическом исследовании подопытных животных, которых лечили сочетаниями лекарственных препаратов, в лёгких отмечалось венозное полнокровие, субплевральные точечные кровоизлияния и начальный интерстициальный отёк.

Следовательно, применение сочетаний наиболее активных лекарственных препаратов при тяжёлой интоксикации крыс аммиаком значительно повышает выживаемость подопытных животных, облегчает течение интоксикации и уменьшает гидратацию лёгочной ткани.

Таблица 12 – Ключевые показатели эффективности сочетанного применения лекарственных средств при поражении крыс аммиаком

№ п/п	Условия эксперимента	Время гибели 50% крыс, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг	КФ, мккат/л	ЩФ, мккат/л	ОП плазмы, г/л	ВНиСММ, у.е.
1.	Интактные животные	—	—	6,5±0,5	0,75±0,11	0,68±0,12	0,22±0,05	35,6±5,8
2.	Контроль	2	10/10	19,5±1,5*	2,01±0,28*	1,46±0,24*	0,61±0,03*	79,4±6,3*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	12	5/10	7,5±2,5	1,03±0,16*	0,97±0,14*	0,43±0,04*	66,2±5,2*
4.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	8	6/10	8,7±2,8	1,17±0,15*	1,11±0,12*	0,51±0,02*	70,2±5,7*
5.	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	—	4/10	6,8±0,8	0,99±0,14	0,86±0,12	0,34±0,04*	57,6±5,4*
6.	Сальбутамол 1 мг/кг + Педифен 2,5 мг/кг ингаляционно	10	5/10	7,3±2,2	1,01±0,15*	0,92±0,15*	0,39±0,03*	59,4±5,6*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$								

В отношении механизма положительного эффекта препаратов можно отметить, что стабилизировались клеточные мембраны альвеолоцитов. Это проявлялось в снижении активности в крови маркеров цитолиза (КФ, ЩФ). Детоксицирующие системы лёгких активировались, что подтверждалось снижением в крови показателей эндогенной интоксикации (токсемии) — олигопептидов и веществ низкой и средней молекулярной массы. Величина ВКЛ, характеризующая степень отёка лёгких, практически не отличалась от интактных животных.

Результаты, полученные при оценке интенсивности потребления кислорода при поражении аммиаком и лечении wybranными лекарственными средствами при их сочетанном применении представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Интенсивность потребления кислорода при поражении крыс аммиаком и сочетанном применении препаратов ($M \pm m$)

№ п/п	Условия эксперимента	qO_2 , мкмоль/кг
1	Интактные животные	$6,2 \pm 0,2$
2	Контроль	$2,1 \pm 0,6^*$
3	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	$4,2 \pm 0,2^*$
4	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$5,1 \pm 0,1^*$
5	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$5,2 \pm 0,3$
6	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг + Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	$5,1 \pm 0,2$
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$		

Применение препаратов положительно сказывалось на потреблении кислорода.

4.3.2. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении хлором

Ингаляционное воздействие хлора на крыс осуществляли в течение 15 минут в концентрации 5 мг/л. Препараты применяли в тех же дозах и по той же схеме, как в опыте с аммиаком. Показатели регистрировали через 2 часа после затравки. Результаты представлены в таблице 14.

Оказалось, что применение препаратов благоприятно сказывается на течении и исходе интоксикации: повышается выживаемость животных; снизился почти в 2 раза уровень гидратации лёгких.

Снизилась активность в крови маркеров цитолиза (КФ, ЩФ). Уменьшились также уровни показателей эндогенной интоксикации.

Таблица 14 – Ключевые показатели эффективности сочетанного применения лекарственных средств при поражении крыс хлором

№ п/п	Условия эксперимента	Время гибели 50% крыс, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг	КФ, мккат/л	ЩФ, мккат/л	ОП плазмы, г/л	ВНиСММ, у.е.
1.	Интактные животные	—	—	6,5±0,5	0,75±0,11	0,68±0,12	0,22±0,05	35,6±5,8
2.	Контроль	4	10/10	22,4±0,5*	1,56±0,29*	1,84±0,24*	0,82±0,03*	97,3±6,3*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	12	6/10	7,5±1,5	1,13±0,16*	0,93±0,14*	0,54±0,04*	63,2±4,1*
4.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	10	7/10	7,7±2,8	1,17±0,15*	0,81±0,11	0,50±0,02*	67,2±4,6*
5.	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	12	6/10	6,9±0,7	0,97±0,12	0,76±0,12	0,36±0,05*	55,7±5,2*
6.	Сальбутамол 1 мг/кг + Педифен 2,5 мг/кг ингаляционно	12	6/10	7,4±1,9	1,03±0,11*	0,80±0,12*	0,41±0,05*	55,6±5,3*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$								

Результаты, полученные при оценке интенсивности потребления кислорода при поражении хлором и лечении выбранными лекарственными средствами при их сочетанном применении представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Интенсивность потребления кислорода при поражении крыс хлором и сочетанном применении препаратов ($M \pm m$)

№ п/п	Условия эксперимента	qO_2 , мкмоль/кг
1	Интактные животные	$6,2 \pm 0,2$
2	Контроль	$1,1 \pm 0,5^*$
3	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	$3,2 \pm 0,1^*$
4	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$5,0 \pm 0,1^*$
5	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$4,2 \pm 0,3^*$
6	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг + Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	$5,0 \pm 0,2$
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$		

Применение препаратов положительно сказывалось на потреблении кислорода.

4.3.3. Оценка эффективности сочетанного применения лекарственных препаратов при поражении фосгеном

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л, в которую подавался фосген в концентрации 1,5 мг/л в течение 60 минут. Далее контрольные животные извлекались из камеры в садки для наблюдения, а экспериментальные группы подвергались лечебному воздействию. Показатели регистрировали через 2 часа после затравки. Результаты представлены в таблице 16.

Они свидетельствуют о высокой эффективности сочетанного лечебного применения всех препаратов.

В контрольной группе при вскрытии после эвтаназии выживших животных через сутки отмечались: венозный стаз, отёк лёгких, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния, к которым присоединялись бронхопневмонии с ателектазами и компенсаторной эмфиземой лёгких.

При вскрытии части выживших животных через сутки после лечения препаратами в лёгких наблюдались менее выраженные изменения: незначительные признаки интерстициального отёка и венозного стаза с единичными точечными субплевральными кровоизлияниями при полном отсутствии отёка альвеол, инфарктов лёгких, ателектазов, эмфиземы и пневмоний. Эти данные подтверждались величинами ВКЛ, которые в случае лечения почти не отличались от интактной группы.

Ключевые показатели эффективности лечения стремились к нормализации.

Таблица 16 – Ключевые показатели эффективности сочетанного применения лекарственных средств при поражении крыс фосгеном

№ п/п	Условия эксперимента	Время гибели 50% крыс, час	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг	КФ, мккат/л	ЩФ, мккат/л	ОП плазмы, г/л	ВНиСММ, у.е.
1.	Интактные животные	—	—	6,5±0,5	0,75±0,11	0,68±0,12	0,22±0,05	35,6±5,8
2.	Контроль	6	5/10	22,7±0,5*	2,16±0,28*	2,81±0,24*	0,98±0,03*	99,7±6,4*
3.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	—	2/10	7,5±1,5	1,68±0,16*	1,92±0,13*	0,64±0,04*	62,0±4,0*
4.	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	—	3/10	7,4±2,9	1,15±0,14*	1,81±0,10*	0,68±0,02*	66,0±4,4*
5.	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	—	2/10	6,8±1,7	0,98±0,13	0,78±0,13	0,36±0,06*	54,7±5,3*
6.	Сальбутамол 1 мг/кг + Педифен 2,5 мг/кг ингаляционно	—	3/10	7,2±2,0	0,96±0,15*	0,80±0,15*	0,43±0,06*	57,2±4,8*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$								

Результаты, полученные при оценке интенсивности потребления кислорода при поражении фосгеном и лечении wybranными лекарственными средствами при их сочетанном применении представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Интенсивность потребления кислорода при поражении крыс фосгеном и сочетанном применении препаратов ($M \pm m$)

№ п/п	Условия эксперимента	qO_2 , мкмоль/кг
1	Интактные животные	$6,2 \pm 0,2$
2	Контроль	$1,0 \pm 0,4^*$
3	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Преднизолон в/м 5 мг/кг	$3,2 \pm 0,1^*$
4	Эуфиллин в/м 10 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$4,9 \pm 0,4^*$
5	Преднизолон в/м 5 мг/кг + Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг	$5,2 \pm 0,3$
6	Сальбутамол ингаляционно 1 мг/кг + Педифен ингаляционно 2,5 мг/кг	$5,1 \pm 0,3$
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$		

Прослеживалась аналогичная тенденция как при отравлении аммиаком и хлором: применение препаратов положительно сказывалось на потреблении кислорода.

ГЛАВА 5. ОБОСНОВАНИЕ РЕЦЕПТУРЫ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «САЛЬБУФЕН»

Проблема профилактики и лечения поражений дыхательной системы раздражающими веществами, используемыми в промышленности и попадающими в окружающую среду при авариях на предприятиях и транспорте, остаётся весьма актуальной. Оказалось, что в арсенале врачей отсутствует комплексный препарат для быстрого купирования бронхообтурационного синдрома и синдрома гипергидратации лёгких, вызванного ирритантами.

В международной медицинской практике и у нас в стране применяются отдельные лекарственные препараты, в том числе, в ингаляционной форме, из групп адреномиметиков и холинолитиков, обладающие бронхолитическим действием. Вместе с тем, нет сведений об использовании комплексных аэрозольных препаратов с необходимым широким спектром фармакологической активности для защиты дыхательной системы: местноанестезирующей, бронхолитической, холинолитической, спазмолитической, антиоксидантной, антимикробной. Поэтому проблема совершенствования терапии поражений пульмонотоксикантами раздражающего типа действия нуждается в дальнейшем развитии и поиске новых малотоксичных лекарственных средств.

В отечественной и зарубежной литературе имеются сведения об использовании в качестве средств для лечения бронхообструктивного синдрома β_2 -адреномиметиков в сочетании с глюкокортикоидами [Колбасов С.Е., 2012; Колосов Р.В., Беловолов А.Ю., Назаров В.Б., Гладких В.Д., 2013]. В частности, используют селективный β_2 -адреномиметик салбутамол в сочетании с глюкокортикоидом будесонидом [Дементьева Г.М., Балашова Е.Д., Кушнарера М.В., 2008] или М-холинолитиком атровентом [Мельник М.Г., 2011]. Кроме этого, для купирования бронхоспазма используют ингаляции М-холинолитика ипратропия бромида [Мишук В.П., Блинникова Л.В., Ланжук А.В., 2006] или метацина [Лосев Н.А., Кирсанов А.И., Шестакова Л.А., 1996].

В основном, ингаляционные смеси β_2 -адреномиметиков и М-холинолитиков используют в комплексной терапии бронхиальной астмы [Novel combination of anticholinergic and beta mimetics for the treatment of respiratory diseases, 2010], в свою очередь, терапия поражений дыхательной системы сильнодействующими раздражающими веществами практически не представлена в доступной литературе [Aerosol for treating poisoning by nitrogen oxide and its use and preparation method, 2003].

При анализе российской и зарубежной патентной и научно-технической литературы не обнаружено достаточных данных о разработке, изучении и внедрении в клиническую практику новых готовых комплексных лекарственных препаратов на основе β_2 -адреномиметиков и холинолитиков. Чаще всего ex tempore готовятся смеси препаратов, которые в дальнейшем применяются с помощью небулайзеров [Delivery of a combination therapy for asthma and chronic obstructive pulmonary disease, 2007].

Кроме этого, в качестве холинолитиков используются известные препараты, влияющие на М-холинорецепторы и не обладающие достаточным спектром пульмонопротективного действия и отсутствием выраженных побочных эффектов [Novel long-acting medicament combinations comprising an anticholinergic agent and a G(B)2-adrenoreceptor antagonist for the treatment of respiratory tract diseases, 2007]. В литературе отсутствуют сведения о применении в ингаляционной терапии поражений пульмонотоксикантами Н-холинолитиков.

Проведенные исследования по оценке эффективности различных схем лечения поражений раздражающими веществами показали, что наиболее эффективной является комбинированная терапия, сочетающая применение β_2 -адреномиметика короткого действия и холинолитика. Это послужило основой для разработки нового комплексного препарата, который получил условное название «Сальбуфен».

«Сальбуфен» — новый комплексный препарат, сочетающий в себе преимущества применения β_2 -адреномиметика короткого действия салбутамола сульфата и центрального Н-холинолитика педифена. Форма выпуска в виде

дозированного спрея обуславливает удобство применения, хранения и транспортировки препарата.

Сальбутамола сульфат (2-трет-бутиламино-1-(4-окси-3-оксиметил-фенил)-этанол сульфат) — короткодействующий селективный агонист β_2 -адренорецепторов, стимулирует β_2 -адренорецепторы бронхов, кровеносных сосудов, практически не оказывает действия на β_1 -адренорецепторы сердца.

Высокоселективно стимулирует β_2 -адренорецепторы, активирует внутриклеточную аденилатциклазу. Бронхолитический эффект обусловлен расслаблением гладкой мускулатуры бронхов. Не разрушается лёгочной катехол-О-метилтрансферазой и поэтому действует длительно. При ингаляции 10-20% достигает мелких бронхов и постепенно всасывается, часть дозы после проглатывания абсорбируется из ЖКТ. Максимальная быстрота действия (снятие бронхоспазма) достигается при ингаляционном пути введения. Тормозит выброс медиаторов воспаления из тучных клеток и базофилов, в частности анти-IgE-индуцированный выброс гистамина, устраняет антигензависимое подавление мукоцилиарного транспорта и выделение фактора хемотаксиса нейтрофилов. Предупреждает развитие индуцированного аллергеном бронхоспазма. Может вызывать десенситизацию и редукцию числа бета-адренорецепторов, в т.ч. на лимфоцитах. Обладает рядом метаболических эффектов — снижает содержание калия в плазме, влияет на гликогенолиз и выделение инсулина, оказывает гипергликемический (особенно у пациентов с бронхиальной астмой) и липолитический эффекты, увеличивает риск развития ацидоза.

Педифен (N,N-диэтил-5,5-дифенил-2-пентиниламина гидрохлорид) представляет собой ацетиленовый амин с молекулярной массой 327,9. Педифен — белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок, без запаха, $T_{пл.}$ 120-123°C, легкорастворим в воде, 96% спирте, хлороформе, практически нерастворим в эфире. В водных растворах стабилен [Жестков В.П., Крымов А.П., Алещенко В.Ф., Крымова Л.И., 2003; Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Педифен является антиоксидантом. В опытах *in vitro* было показано, что педифен примерно в 10 раз превосходит аскорбиновую кислоту, уступая по

активности токоферолу. Введение педифена «интактным» животным сопровождается снижением свободно-радикального окисления тканей и повышением их антиокислительной активности. Предупреждает активацию перекисного окисления липидов [Зацепин Э.П., Чураев Н.Н., 1987]. У педифена обнаружены и мембраностабилизирующие свойства, которые, возможно, также связаны с его антиокислительной активностью [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Центральный Н-холинолитик педифен снижает антителопродукцию и уменьшает выраженность аллергических реакций [Лазарева Д.Н., Алехин Е.К., 1985; Забродский П.Ф., Мандыч В.Г., 2007].

Обладает стимулирующим воздействием на центральную нервную систему, выраженной спазмолитической активностью, превышая папаверин в 6,5 раз по данному показателю [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Обладает выраженным местноанестезирующим действием. При изучении терминальной анестезии установлено, что по активности он не уступает дикаину, а при проводниковой превосходит новокаин [Беловолов А.Ю. и др., 2013].

Перечисленные выше фармакологические свойства сальбутамола сульфата и педифена, взаимное потенцирование действия веществ при комбинированной терапии и удобство ингаляционного введения комплексного препарата являются неоспоримыми преимуществами препарата «Сальбуфен».

5.1. Результаты экспериментальной оценки специфической эффективности лекарственной формы препарата «Сальбуфен» при ингаляционных поражениях хлором, аммиаком, фосгеном и при моделировании хронических заболеваний лёгких

5.1.1. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при аммиачном отёке лёгких

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 литров, в которую динамическим способом нагнетался аммиачный аэрозоль в концентрации 20 мг/л. Концентрация 20 мг/л при 20 минутном воздействии составляет приблизительно 3 LC₅₀ (1,5-2 LC₉₉). Далее контрольные животные извлекались из камеры в садки для последующего наблюдения, а экспериментальная группа оставалась в гермокамере, куда ингаляционно распылялся аэрозоль препарата «Сальбуфен». Расчётные концентрации препарата в камере с учётом сорбционных потерь составляли 5 мг/л. Животные находились в камере 10 минут, поэтому каждый из них с учётом средней величины лёгочной вентиляции для крыс (0,08 л/мин) поглотил ингаляционно дозу препарата, равную 25 мг/кг массы. После этого экспериментальные животные также помещались в садки для последующего наблюдения. Результаты эксперимента представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Эффективность препарата «Сальбуфен» при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс аммиаком

Условия эксперимента	Время гибели животных	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг массы тела
Интактные животные	—	—	6,6±0,4
Контроль	1,5 часа	10/10	19,3±1,6*
«Сальбуфен» (ингаляционно)	12 часов	6/10	8,4±2,2
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$			

Следует отметить, что через 15 минут от начала затравки у всех животных отмечались ярко выраженные симптомы раздражения глаз, открытых участков кожи и верхних дыхательных путей, которые сочетались с заторможенностью, сопором и боковым положением тела. Через 20-30 минут наблюдались атаксия, мышечные подёргивания и тремор головы. У части животных в это время отмечались короткие периоды двигательного возбуждения с развитием быстро проходящих клонических судорожных приступов. Через 40-45 минут наблюдалась гибель отдельных особей (контрольных) при явлениях паралича и остановки дыхания.

Гистологически в лёгких контрольных животных выявлялся венозный стаз и альвеолярный отёк, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния. Все контрольные животные погибли в течение 2-3 часов после затравки.

При вскрытии и гистологическом исследовании опытных животных в лёгких отмечалось венозное полнокровие, субплевральные точечные кровоизлияния и начальный интерстициальный отёк.

Следовательно, ингаляционное применение препарата «Сальбуфен» при тяжёлой интоксикации крыс аммиаком повышает выживаемость животных, облегчает течение интоксикации и уменьшает гидратацию лёгочной ткани.

5.1.2. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при тяжёлой интоксикации крыс хлором

Ингаляционное воздействие хлора на крыс осуществляли в течение 15 минут в концентрации 5 мг/л. Препарат применяли в той же дозе и по той же схеме, как в опыте с аммиаком. Результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Эффективность рецептуры при отёке лёгких, вызванном хлором

Условия эксперимента	Время гибели животных	Эффект через сутки, пало/всего	ВКЛ, г/кг массы тела
Интактные животные	—	—	6,6±0,4
Контроль	3,5 часа	10/10	21,3±2,6*
«Сальбуфен» (ингаляционно)	12 часов	6/10	9,8±1,6
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$			

Оказалось, что применение препарата благоприятно сказывается на течении и исходе интоксикации: на 40% повышается выживаемость животных, увеличивается продолжительность жизни погибающих особей с параллельным снижением почти в 2 раза уровня гидратации лёгких. В данном случае можно также предположить, что препарат предотвращает или уменьшает степень выраженности токсического отёка лёгких.

5.1.3. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при токсическом отёке лёгких, вызванном фосгеном

Для затравки опытные и контрольные животные группами по 10 особей мужского пола помещались в гермокамеру типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л, в которую подавался фосген в концентрации 1,5 мг/л в течение 1 часа. Далее контрольные животные извлекались из камеры в садки для наблюдения, а экспериментальные группы в других гермокамерах подвергались в течение 15 минут лечебному ингаляционному воздействию препарата «Сальбуфен». У погибших и выживших животных определяли ВКЛ, МДА, АК и Г-SH лёгких. Результаты представлены в таблице 20.

Они свидетельствуют о высокой эффективности ингаляционного применения препарата.

В контрольной группе при вскрытии после эвтаназии выживших животных через сутки отмечались: венозный стаз, отёк лёгких, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния, к которым присоединялись бронхопневмонии с ателектазами и компенсаторной эмфиземой лёгких.

При вскрытии погибших и выживших животных после лечения препаратом «Сальбуфен» в лёгких наблюдались менее выраженные изменения: незначительные признаки интерстициального отёка и венозного стаза с единичными точечными субплевральными кровоизлияниями при полном отсутствии отёка альвеол, инфарктов лёгких, ателектазов, эмфиземы и пневмоний. Эти данные подтверждались величинами ВКЛ, которые в случае лечения почти не отличались от интактной группы.

Обращают на себя внимание показатели ПОЛ и антирадикальной защиты лёгких при лечении животных рецептурой. Препарат достоверно тормозил активацию процессов ПОЛ и повышал уровень антиоксидантной защиты лёгких, в особенности Г-SH.

Таблица 20 – ВКЛ (г/кг массы тела), содержание МДА (Нмоль/мг белка), АК (мкг/мг белка), Г-SH, (мкг/мг белка) в лёгких крыс и эффективность препарата «Сальбуфен» при острой тяжёлой затравке фосгеном ($M \pm m$)

Условия эксперимента	Эффект через сутки, пало/всего	Время гибели 50% животных	ВКЛ г/кг массы тела	МДА Нмоль/мг белка	АК мкг/мг белка	Г-SH мкг/мг белка
Интактные	—	—	6,6±0,4	2,79±0,29	3,29±0,14	3,67±0,15
Контроль	6/10	6 часов	21,1±2,4*	4,19±0,25*	1,70±0,18*	1,52±0,20*
«Сальбуфен»	4/10	—	10,5±1,1*	3,21±0,23*	2,24±0,25*	1,71±0,18*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных при $p < 0,05$						

Полученные результаты позволили испытать «Сальбуфен» на модели хронической неспецифической лёгочной патологии со всеми присущими ей основными синдромами (бронхообтурация, хроническое воспаление, нарушения лёгочного иммунитета, пневмосклероз), требующими коррекции у человека.

5.1.4. Оценка эффективности препарата «Сальбуфен» при экспериментальных хронических неспецифических заболеваниях лёгких

Результаты экспериментов представлены в таблице 21.

Полученные результаты демонстрируют высокую эффективность ингаляционного применения нового препарата.

Прежде всего, необходимо отметить, что в экспериментальной группе без лечения 6 из 20 животных погибли в ходе опыта, а при лечении — пало 2 животных из 10.

В группе животных, не получавших ингаляционной терапии, все показатели, характеризующие состояние бронхов и лёгких, свидетельствовали об активном течении воспалительного и аллергического процессов, выраженными были бронхообтурация, клеточные и метаболические сдвиги. При просмотре гистологических препаратов лёгких наблюдались полнокровие сосудов всех калибров, одиночные кровоизлияния, мелкоочаговый отёк, воспалительные инфильтрации. Просвет мелких и средних бронхов сужен, слизистая бронхов имела фестончатый вид.

Животные, получавшие ингаляции практически не отличались от интактных особей. Показатели, характеризующие состояние бронхолёгочного аппарата, возвращались к нормальным величинам: ликвидировалась бронхообтурация, уменьшалось количество НЛ и возрастало количество АМ, повышалась активность сурфактантной системы лёгких (уменьшалось ПН), увеличивалась активность антирадикальной системы, а прооксидантные эффекты нивелировались. Это подтверждалось и гистологическими данными: у животных практически отсутствовали структурные изменения лёгких.

Следовательно, ингаляционное применение рецептуры оказалось эффективным при экспериментальном моделировании ХНЗЛ.

Таблица 21 – Показатели, характеризующие состояние бронхолёгочной системы экспериментальных животных, при моделировании ХНЗЛ и применении препарата «Сальбуфен»

Показатели и единицы их измерения	Экспериментальные группы		
	1	2	3
1	2	3	4
Выживаемость, пало/всего	0/10	6/20	2/10
Масса тела, г	216±11	193±12*	196±11*
Показатель бронхообструкции, вдох/выдох	0,62±0,04	0,43±0,05*	0,49±0,05*
Отношение НЛ/АМ	0,56±0,14	2,09±0,38*	1,52±0,40*
ПН, мН/м	19,1±0,4	48,0±1,7*	30,1±1,5*
ВКЛ, г/кг массы тела	6,5±0,5	9,4±0,6*	8,5±0,5*
МДА, нмоль/мг белка	3,58±0,64	6,51±0,52*	5,08±0,77*
АК, мкг/мг белка	4,07±0,38	2,11±0,49*	2,32±0,43*
Г-SH, мкг/мг белка	4,98±0,50	2,15±0,42*	2,53±0,30*
КФ, мккат/л	0,80±0,14	1,99±0,25*	1,23±0,28*
ЩФ, мккат/л	0,71±0,14	1,50±0,25*	1,09±0,10*
Общий белок сыворотки, г/л	63±2	61±3	60±2
Альбумины, г/л	40±4	29±4*	37±3
Глобулины, г/л	23±2	30±3*	25±5

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4
СРБ, ±	–	+++	++
Сиаловые кислоты, ммоль/л	1,59±0,32	4,31±0,50*	3,21±0,77*
СОЭ, мм/ч	4,2±0,3	11,9±0,4*	8,3±0,4*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,9±0,5	13,5±0,5*	9,1±0,4*
Сегментоядерные нейтрофилы, %	12±2	5±1*	6±1*
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2±1	7±1*	5±1*
Лимфоциты, %	70±3	49±3*	60±3*
Эозинофилы, %	3±1	9±1*	6±1*
Примечание – * – Достоверные отличия от интактных животных (группа №1) при p <0,05			

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА «САЛЬБУФЕН»

Обязательным этапом разработки и внедрения средств для быстрого купирования бронхообтурационного синдрома, вызванного пульмонотоксикантами (новых лекарственных средств и известных, используемых по новому назначению) является доклиническое исследование их эффективности и безопасности на лабораторных животных [Гуськова Т.А., 2010; Миронов А.Н. и др., 2012].

6.1. Результаты, полученные при изучении острой токсичности комплексного аэрозольного препарата при ингаляционном введении грызунам

6.1.1. Экспериментальная программа (протокол исследования)

Определение показателей острой токсичности включало эксперименты на грызунах (мышях и крысах). Животные распределялись по группам случайным образом методом рандомизации. В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по весу тела ($\pm 10\%$).

ЛД₅₀ вычисляли предварительно перед каждой серией экспериментов «табличным экспресс-методом» по В.Б. Прозоровскому [Прозоровский В.Б., 1994, 2007]. Для исследования каждой дозы препарата использовались группы по 6 животных одного пола. Выживаемость оценивали в течение 1-х суток [Гацура В.В., 1974].

Препарат вводили белым крысам и мышам обоего пола ингаляционно (рисунок 12) и внутрижелудочно (с помощью шприца с атравматичной насадкой) в возрастающих дозах по Литчфилду-Уилкоксону. При ингаляционном введении распылительную насадку вводили в рот животному и совершали заданное количество нажатий. При этом предварительно установлено, что при одном

нажатии в течение одной секунды распыляется приблизительно 100 мкг содержимого флакона или 0,35 мкг суммы активных компонентов: 0,25 мкг педифена и 0,10 мкг сальбутамола. Кроме того, имелись аналогичные по численности группы контрольных животных каждого пола, которым по тому же пути вводили эквивалентные объёмы растворителя — дистиллированной воды.

Дозирование осуществляли, исходя из содержания суммы активных компонентов в спрее.



Рисунок 12 – Ингаляционное введение препарата белой мыши

Период последующего наблюдения составлял 14 суток. Регистрируемые показатели: наличие или отсутствие летальности, симптоматика отравления, ежедневное наблюдение общего состояния и поведения, взвешивание, потребление корма и воды, вскрытие и макроскопическое описание животных в конце исследования (эвтаназия осуществлялась в CO₂-камере), оценка местнораздражающего действия, определение массовых коэффициентов внутренних органов.

6.1.2. Токсикометрия

Зависимые от доз летальные эффекты препарата «Сальбуфен» при внутрижелудочном (в/ж) введении представлены в таблицах 22-24.

Таблица 22 – Летальные эффекты (пало/всего) препарата «Сальбуфен» при в/ж введении мышам

Доза, мг/кг	85	170	450	600
самцы	0/6	1/6	2/6	6/6
самки	0/6	2/6	4/6	6/6

самцы

самки

$$LD_{16} = 260 \pm 40 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{16} = 285 \pm 20 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{50} = 470 \pm 65 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{50} = 370 \pm 15 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{84} = 695 \pm 85 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{84} = 490 \pm 40 \text{ мг/кг}$$

Таблица 23 – Летальные эффекты (пало/всего) препарата «Сальбуфен» при в/ж введении крысам

Доза, мг/кг	85	170	450	600	850	1000
самцы	0/6	0/6	1/6	2/6	3/6	6/6
самки	0/6	1/6	2/6	2/6	4/6	6/6

самцы

самки

$$LD_{16} = 405 \pm 30 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{16} = 430 \pm 20 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{50} = 785 \pm 50 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{50} = 685 \pm 25 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{84} = 1390 \pm 235 \text{ мг/кг}$$

$$LD_{84} = 1030 \pm 85 \text{ мг/кг}$$

Таблица 24 – Летальные эффекты (пало/всего) препарата «Сальбуфен» при ингаляционном введении крысам

Доза, мг/кг	60	100	200	400	600	800
самцы	0/6	1/6	1/6	2/6	4/6	6/6
самки	0/6	1/6	2/6	3/6	4/6	6/6

самцы	самки
$LD_{16} = 165 \pm 50$ мг/кг	$LD_{16} = 85 \pm 30$ мг/кг
$LD_{50} = 400 \pm 80$ мг/кг	$LD_{50} = 430 \pm 45$ мг/кг
$LD_{84} = 735 \pm 80$ мг/кг	$LD_{84} = 1110 \pm 240$ мг/кг

Полученные результаты показывают, что самки животных оказались несколько более чувствительными к препарату, чем самцы.

Из клинических проявлений отмечали гиподинамию, взъерошенность шерсти, атаксию и беспокойство.

Гибель животных при в/ж и ингаляционном введении смертельных доз препарата (более 100-170 мг/кг) наблюдалась в течение суток от момента введения при явлениях одышки, заторможенности, вялости, оглушения, кратковременных судорог в агональной стадии и паралича. Шерсть была взъерошенной, наблюдался акроцианоз. Вскрытие погибших при в/ж введении мышей и крыс (в/ж, ингаляционно) выявило, помимо венозного полнокровия внутренних органов, субплевральные и субдуральные кровоизлияния, а также мелкие кровоизлияния в продолговатом мозге и полушариях коры.

У остальных экспериментальных животных в первые сутки отмечались заторможенность, вялость, снижение потребления корма и воды. В остальные дни общее состояние и поведение экспериментальных животных не отличались от контрольной группы. На вскрытии — без особенностей. Половых различий в течении интоксикации не отмечалось.

Изложенное выше демонстрируется таблицами 25-30.

Таблица 25 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на массу тела мышей-самцов, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	19,6±0,2	20,0±0,1	19,5±0,3
2-й день	19,2±0,3	19,4±0,3	19,3±0,2
7-й день	20,8±0,1	20,2±0,1	20,0±0,2
14-й день	20,9±0,4	20,6±0,3	20,4±0,1

Таблица 26 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на массу тела мышей-самок, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	19,4±0,3	20,1±0,3	19,6±0,3
2-й день	19,0±0,2	19,6±0,1	19,2±0,2
7-й день	20,1±0,2	19,9±0,2	20,1±0,2
14-й день	21,0±0,2	20,6±0,2	20,5±0,2

Таблица 27 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на массу тела крыс-самцов, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	175,6±3,0	173,4±3,2	174,5±3,1
2-й день	174,2±2,3	165,3±3,1	171,3±3,0
7-й день	177,4±3,4	176,5±3,1	177,4±3,4
14-й день	200,5±3,1	189,4±3,0	188,2±2,7

Таблица 28 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на массу тела крыс-самок, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	172,6 \pm 2,7	175,5 \pm 3,3	173,4 \pm 2,1
2-й день	169,7 \pm 3,1	171,0 \pm 1,6	172,0 \pm 3,2
7-й день	174,5 \pm 2,7	176,8 \pm 2,4	175,2 \pm 3,0
14-й день	187,5 \pm 3,1	188,3 \pm 3,2	183,8 \pm 2,6

Таблица 29 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на потребление корма крыс-самцов, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	16,7 \pm 2,3	17,2 \pm 2,5	18,4 \pm 2,4
2-й день	14,3 \pm 1,3	13,6 \pm 1,4	13,2 \pm 1,4
7-й день	17,7 \pm 1,2	18,3 \pm 2,6	19,1 \pm 2,3
14-й день	19,6 \pm 2,4	19,7 \pm 2,4	18,3 \pm 2,4

Таблица 30 – Влияние острого введения препарата «Сальбуфен» на потребление корма крыс-самок, г ($M \pm m$)

Время наблюдения	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Фон	19,8 \pm 2,4	18,3 \pm 2,4	19,6 \pm 2,4
2-й день	14,0 \pm 1,4	13,7 \pm 1,5	14,3 \pm 1,6
7-й день	19,4 \pm 2,3	18,2 \pm 2,8	18,0 \pm 2,3
14-й день	18,3 \pm 2,4	17,8 \pm 2,8	19,7 \pm 2,4

Анализ полученных данных показывает некоторое снижение средней массы тела у всех животных, получавших препарат, на второй день после введения. Этот же эффект отмечался и в контроле (хотя и в меньшей степени), так что он может быть вызван общим стрессом.

В последующие период наблюдения животные, получившие высокие дозы препарата, имели заметно пониженную динамику массы тела по сравнению с контролем. Однако какого-либо значимого различия между животными, получавшими препарат в/ж и ингаляционно, не обнаруживается. Таким образом, достоверных различий в динамике массы тела в группах животных, получавших препарат в/ж и ингаляционно, не выявляется.

6.1.3. Данные вскрытия (некропсии)

На вскрытии крыс и мышей в конце эксперимента (через 14 дней) различий между животными, получавшими препарат в/ж и ингаляционно, не установлено.

Шерсть опытных животных имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения. Питание животных было удовлетворительным.

При осмотре грудной и брюшной полостей нарушений в расположении внутренних органов не отмечалось.

Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы имели овальную или округлую форму, однородный розоватый или желтоватый цвет и умеренную плотность.

Щитовидная железа плотно прилежала к гортани, имела обычные размеры и плотность, розовато-красноватый цвет. Тимус имел треугольную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма сердца изменений не представляли. Мышца сердца была коричневатой, плотной.

Поверхность лёгких имела бледно-розовую окраску; лёгкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелёгочных бронхов была гладкой, блестящей, бледно-розовой.

Селезёнка имела тёмно-вишневый цвет, гладкую поверхность и плотноватую консистенцию.

Поджелудочная железа была бледно-розовой, дольчатой.

Величина и форма печени изменений не представляли. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма почек не отличались от контроля, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной коричневато-сероватой окраски. На разрезе почек отчётливо различались корковое и мозговое вещество.

Форма, размеры и плотность надпочечников, яичников или яичек не отличались от контроля.

Оболочки головного мозга были тонкими, прозрачными. Вещество головного мозга имело умеренную плотность. Расширения желудочков мозга не наблюдалось.

У животных, получивших препарат внутривентрикулярно, видимых нарушений со стороны органов желудочно-кишечного тракта не наблюдалось. Слизистая пищевода была блестящей, гладкой, бледного цвета. Величина и форма желудка изменений не представляли. Его просвет был заполнен пищевым содержимым. Гиперемии, эрозий, кровоизлияний, свидетельствующих о раздражающем действии введенного препарата, не наблюдалось. Просвет 12-перстной кишки изменений не представлял, слизистая кишки была блестящей, гладкой, бледно-розовой. Слизистая оболочка тонкой кишки была так же бледно-розовой, блестящей, гладкой. Слизистая оболочка толстой кишки имела слегка сероватый оттенок, была гладкой, блестящей.

У животных, получавших препарат ингаляционно, слизистые рта, глотки и гортани — без изменений, раздражения, воспаления или некроза не наблюдалось. Ткань лёгких без изменений.

В таблицах 31-34 приведены массовые коэффициенты внутренних органов мышей и крыс, усредненные по группам.

Анализ величин массовых коэффициентов не выявил каких-либо достоверных отличий как между группами животных, получавшими препарат при разных путях введения, так и по отношению к контрольной группе.

Таблица 31 – Массовые коэффициенты (МК) органов у белых мышей-самцов при остром введении препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$)

Орган	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Сердце	3,3±0,3	3,5±0,3	3,4±0,2
Лёгкие с трахеей	6,5±0,2	6,3±0,2	6,4±0,1
Тимус	0,81±0,01	0,83±0,01	0,82±0,05
Печень	38,6±2,2	39,2±2,8	37,9±2,2
Селезёнка	3,4±0,1	3,3±0,1	3,5±0,1
Почка (левая)	4,3±0,1	4,2±0,1	4,3±0,1
Надпочечники	0,19±0,01	0,18±0,01	0,19±0,02
Головной мозг	15,2±0,1	15,2±0,1	15,0±0,1
Яички	5,1±0,1	5,1±0,3	5,2±0,2

Таблица 32 – Массовые коэффициенты (МК) органов у белых мышей-самок при остром введении препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$)

Орган	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Сердце	3,1±0,1	3,0±0,1	3,1±0,2
Лёгкие с трахеей	6,0±0,1	5,8±0,2	6,1±0,1
Тимус	0,82±0,02	0,78±0,03	0,81±0,02
Печень	38,2±1,8	37,8±2,1	38,0±2,1
Селезёнка	3,0±0,1	2,9±0,2	3,1±0,1
Почка (левая)	4,2±0,1	4,3±0,1	4,2±0,2
Надпочечники	0,17±0,01	0,18±0,01	0,16±0,01
Головной мозг	14,8±0,1	14,9±0,1	15,0±0,2
Яичники	0,16±0,01	0,15±0,01	0,16±0,01

Таблица 33 – Массовые коэффициенты (МК) органов у белых крыс-самцов при остром введении препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$)

Орган	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
1	2	3	4
Сердце	3,8±0,1	3,7±0,1	3,9±0,2
Лёгкие с трахеей	7,6±0,2	7,8±0,4	7,7±0,2
Тимус	0,81±0,03	0,79±0,01	0,80±0,02
Печень	36,8±1,3	35,8±1,4	36,9±0,3
Селезёнка	3,8±0,1	3,9±0,3	3,5±0,2
Почка (левая)	4,2±0,1	4,3±0,3	3,9±0,1

Продолжение таблицы 33

1	2	3	4
Надпочечники	0,14±0,01	0,15±0,01	0,14±0,01
Головной мозг	8,8±0,1	8,6±0,2	9,0±0,1
Яички	12,6±0,1	11,9±0,2	12,0±0,1

Таблица 34 – Массовые коэффициенты (МК) органов у белых крыс-самок при остром введении препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$)

Орган	Экспериментальная группа		
	Контроль	«Сальбуфен» в/ж	«Сальбуфен» инг.
Сердце	3,7±0,1	3,6±0,1	3,8±0,1
Лёгкие с трахеей	7,8±0,4	7,6±0,2	7,7±0,2
Тимус	0,91±0,04	0,93±0,04	0,89±0,03
Печень	36,8±1,6	35,9±1,8	36,8±1,5
Селезёнка	3,4±0,2	3,5±0,4	3,3±0,2
Почка (левая)	4,1±0,3	4,2±0,1	4,3±0,2
Надпочечники	0,10±0,01	0,09±0,01	0,10±0,01
Головной мозг	8,9±0,1	8,8±0,1	8,7±0,1
Яичники	0,22±0,01	0,23±0,01	0,21±0,01

Таким образом, по данным некропсии острое в/ж и ингаляционное введения крысам и в/ж введение мышам препарата «Сальбуфен» не вызывает макроскопических изменений внутренних органов, органов эндокринной системы и головного мозга подопытных белых крыс, а также не сопровождается воспалительными изменениями или раздражением слизистых оболочек рта, глотки, гортани, пищевода, желудка и кишечника.

Следовательно, результаты токсикометрии, данные некропсии и наблюдений за экспериментальными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления позволяют отнести лекарственную форму препарата «Сальбуфен» к IV классу малотоксичных лекарственных веществ, так как величина ЛД₅₀ при в/ж введении для крыс в среднем для самцов и самок составляет 735 мг/кг и попадает в соответствующий интервал токсичности (таблица 35) [Gosselin R.E., Smith R.P., Hodge H.C. et al., 1976, 1984; Сидоров К.К., 1973]. Состояние переживших острую интоксикацию животных свидетельствует о хорошей переносимости и безвредности препарата в дозах, превышающих терапевтические для человека в тысячи раз (терапевтическая доза для человека (10 вдохов) — 0,05 мг/кг).

Таблица 35 – Степени токсичности лекарственных препаратов (по Hodge и Sterner) [Hodge, H.C., Sterner, J.H., 1949]

Степень токсичности	Термин	ЛД ₅₀ , однократно per os, крысы (мг/кг)	ЛД ₅₀ , однократно i/v*, крысы (мг/кг)
1	Чрезвычайно токсично	< 1	< 0,1
2	Высокотоксично	1-50	0,1-5
3	Умеренно токсично	50-500	5-50
4	Малотоксично	500-5000	50-500
5	Практически нетоксично	5000-15000	500-1500
6	Относительно безвредно	> 15000	> 1500

Примечание – * – градации степеней токсичности при внутривенном пути введения определяются посредством умножения значений стандартных доз для оценки токсичности препарата при пероральном пути введения на коэффициент 0,1

Широта терапевтического действия (отношение ЛД₅₀ к терапевтической дозе для человека) при ингаляционном поступлении препарата составляет 8300 (415 мг/кг : 0,05 мг/кг) и является достаточно большой.

6.2. Результаты, полученные при изучении субхронической токсичности комплексного аэрозольного препарата при ингаляционном введении грызунам

6.2.1. Экспериментальная программа (протокол исследования)

Животные: крысы самцы, крысы самки.

Путь введения: ингаляционно.

Дозы

Терапевтическая доза препарата «Сальбуфен» для человека (10 вдохов) — 0,05 мг/кг. Поэтому для эксперимента выбраны три дозы с учётом коэффициента видовой чувствительности крыс:

1 доза — 0,3 мг/кг (средняя «терапевтическая» доза для крысы с учётом коэффициента межвидового переноса, равного 6, исходя из 0,05 мг для человека средней массой 70 кг в сутки).

2 доза — 3 мг/кг (в 10 раз большая — промежуточная).

3 доза — 30 мг/кг (максимальная, субтоксическая для крыс).

Частота введения: ежедневно в одинаковое время в течение 30 суток.

Растворитель (контроль): дистиллированная вода. Каждое животное получало ингаляционно 0,1 мл воды.

Экспериментальные группы

Препарат «Сальбуфен»

1 доза — 15 самцов, 15 самок;

2 доза — 15 самцов, 15 самок;

3 доза — 15 самцов, 15 самок.

Контроль (дистиллированная вода) — 15 самцов, 15 самок.

Интактные — 15 самцов, 15 самок.

Общее количество — 150 животных, из них 30 — контрольная группа, 30 — интактные.

Общая продолжительность наблюдения — 30 дней.

После окончания введения животные всех групп были умерщвлены в CO₂-камере и направлены на вскрытие и патоморфологическое исследование.

Общее состояние оценивалось при ежедневном осмотре животных. Взвешивание, измерение ректальной температуры, потребления воды и корма выполнялось раз в неделю и после окончания введения.

Физиологические исследования проводились до начала опыта и через 30 дней после начала исследования по общепринятым методам.

Гематологические, биохимические исследования, исследования мочи, макроскопическое и гистологическое исследование внутренних органов проводилось посмертно после окончания введения на 30 сутки.

Все полученные экспериментальные данные подвергнуты статистической обработке с применением t-критерия Стьюдента.

6.2.2. Влияние на выживаемость и массу тела

Следует отметить, что в ходе эксперимента не наблюдалось гибели подопытных животных, что свидетельствует о низкой материальной кумуляции исследуемого препарата и тенденции к развитию привыкания. Суммарная доза, полученная крысами на максимальной дозе за 30 дней, составляет 900 мг/кг. Коэффициент кумуляции, равный отношению предполагаемой, но не достигнутой ЛД₅₀ за 30 дней к ЛД₅₀ острой, составляет приблизительно 2,2. По Lim'у это соответствует привыканию.

Точность используемых весов верифицирована до начала исследования. Результаты взвешивания белых крыс представлены в таблице 36.

Таблица 36 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на массу тела белых крыс, г ($M \pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Самцы					
Фон	181,6±2,2	182,8±1,3	184,1±1,8	181,5±1,8	185,0±2,6
7 сутки	191,3±1,7	191,5±2,8	191,1±2,1	189,1±2,5	193,4±2,2
14 сутки	199,2±2,6	203,0±1,7	198,2±1,2	196,9±2,0	203,7±2,5
21 сутки	211,0±2,4	211,6±1,9	209,0±2,5	205,1±1,6	210,2±2,4
30 сутки	220,6±2,1	218,3±2,7	218,9±2,3	217,4±2,0	215,4±2,4
Самки					
Фон	175,3±1,2	176,9±2,2	177,2±2,3	176,2±2,4	178,3±2,1
7 сутки	187,2±1,7	186,3±2,0	187,1±1,6	186,0±2,1	187,0±1,9
14 сутки	198,8±2,0	195,5±2,8	197,4±1,4	196,5±2,1	198,4±1,0
21 сутки	204,0±1,9	203,8±2,2	205,1±2,8	203,5±2,2	204,3±2,4
30 сутки	213,9±2,3	214,5±2,2	215,7±2,6	216,6±2,7	214,3±2,3

Анализ приведённых в таблице 36 данных показывает, что вес животных равномерно увеличивался на протяжении всего срока исследования, как в контрольной, так и во всех опытных группах. Каких-либо различий, связанных с уровнем дозирования, не отмечалось.

6.2.3. Влияние на потребление корма и воды

В эти же временные сроки, через 2 часа после введения препарата, для учёта потребления воды и корма, крысы высаживались в обменные клетки «Теснiplast» на сутки.

Влияние препарата на потребление корма и воды представлено в таблицах 37-38.

Таблица 37 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на потребление корма белыми крысами, г ($M \pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
Самцы					
Фон	19,7±1,0	21,1±0,4	21,4±0,5	21,1±0,3	19,2±0,8
7 сутки	19,2±1,3	20,6±1,0	20,0±1,3	21,0±1,3	21,6±1,2
14 сутки	21,5±1,2	20,4±1,4	21,5±1,1	21,0±1,4	20,3±1,3
21 сутки	20,3±0,7	21,1±1,0	20,9±0,6	20,3±0,8	21,6±0,7
30 сутки	19,1±1,1	20,2±0,6	19,8±0,8	19,7±0,6	20,6±1,0
Самки					
Фон	20,9±1,3	21,6±0,5	21,2±0,6	19,7±0,2	19,0±0,5
7 сутки	20,2±1,9	21,4±1,3	20,6±1,3	20,5±0,7	21,3±1,4
14 сутки	21,5±1,1	20,3±1,3	21,4±1,5	20,4±1,0	20,5±1,8
21 сутки	19,4±0,9	21,1±0,6	20,3±0,9	20,6±0,8	20,6±0,3
30 сутки	19,6±0,9	20,9±0,7	19,5±0,8	19,2±1,1	20,2±0,5

Таблица 38 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на потребление воды белыми крысами, мл ($M \pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Самцы					
Фон	19,2±0,7	18,7±0,8	21,2±0,9	21,0±0,8	19,6±0,8
7 сутки	21,0±0,8	20,5±0,5	20,4±0,5	20,4±0,6	20,9±0,5
14 сутки	21,9±0,8	19,5±0,8	21,4±0,9	20,8±0,7	22,0±0,4
21 сутки	19,5±0,5	19,8±1,0	20,4±0,7	21,2±0,8	21,4±0,7
30 сутки	21,2±0,8	21,3±0,8	21,7±1,10	22,1±0,6	21,2±0,9
Самки					
Фон	20,1±0,5	19,4±0,8	20,4±1,7	19,4±0,8	21,1±1,2
7 сутки	19,1±1,0	21,0±1,0	21,2±1,4	20,7±1,6	20,3±0,9
14 сутки	18,8±0,8	19,6±0,7	19,8±0,7	19,9±0,7	19,0±0,7
21 сутки	19,4±0,6	20,3±0,8	21,7±0,8	20,2±0,9	20,1±0,7
30 сутки	20,5±1,0	22,1±0,6	20,4±0,9	22,0±0,8	21,3±1,1

Кормо- и водопотребление, представленное в таблицах 37 и 38, между всеми экспериментальными группами было одинаково. Половых различий или различий, связанных с уровнем дозирования, не наблюдалось.

6.2.4. Влияние на ректальную температуру

Измерения ректальной температуры крыс выполнялись с помощью электрического медицинского термометра ТПЭМ-1 (допустимая основная

погрешность от диапазона измеряемых температур $\pm 1\%$) через 1 час после введения препарата. Полученные данные представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на ректальную температуру белых крыс, °C ($M\pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Самцы					
Фон	37,2 \pm 0,1	37,1 \pm 0,1	37,1 \pm 0,1	37,2 \pm 0,1	37,3 \pm 0,1
7 сутки	37,3 \pm 0,2	37,0 \pm 0,2	37,2 \pm 0,1	37,8 \pm 0,2	37,0 \pm 0,2
14 сутки	37,1 \pm 0,1	37,1 \pm 0,1	37,1 \pm 0,2	37,5 \pm 0,1	37,6 \pm 0,1
21 сутки	37,6 \pm 0,1	37,3 \pm 0,2	37,5 \pm 0,1	37,4 \pm 0,1	37,5 \pm 0,1
30 сутки	37,3 \pm 0,1	37,2 \pm 0,1	37,4 \pm 0,1	37,7 \pm 0,2	37,8 \pm 0,1
Самки					
Фон	37,1 \pm 0,1	37,1 \pm 0,1	37,2 \pm 0,1	37,2 \pm 0,2	37,4 \pm 0,1
7 сутки	37,7 \pm 0,1	37,5 \pm 0,1	37,7 \pm 0,1	37,2 \pm 0,2	37,4 \pm 0,2
14 сутки	37,5 \pm 0,2	37,2 \pm 0,2	37,4 \pm 0,2	37,1 \pm 0,2	37,2 \pm 0,2
21 сутки	37,4 \pm 0,1	37,6 \pm 0,1	37,6 \pm 0,1	37,7 \pm 0,1	37,9 \pm 0,1
30 сутки	37,7 \pm 0,1	37,5 \pm 0,2	37,5 \pm 0,1	37,4 \pm 0,2	37,5 \pm 0,1

Анализ данных, представленных в таблице 39 показывает, что во всех экспериментальных группах на протяжении всего периода наблюдения статистически значимых отклонений в значениях ректальной температуры от фоновых и контрольных величин не выявлено.

6.2.5. Влияние на сердечно-сосудистую деятельность

Влияние 30 дневного ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на функционирование сердечно-сосудистой системы крыс оценивали по динамике ЧСС и показателям ЭКГ. Данные представлены в таблицах 40 и 41.

Таблица 40 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на ЧСС крыс, уд/мин ($M \pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Самцы					
Фон	413±17	405±14	409±17	408±20	411±14
30 сутки	418±15	399±16	400±15	410±17	402±15
Самки					
Фон	407±16	411±18	409±15	413±17	404±18
30 сутки	411±13	407±15	402±14	399±16	397±13

Таблица 41 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на ЭКГ крыс ($M \pm m$)

Сроки исследования	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
Фон, самцы					
P, мВ	0,07±0,01	0,08±0,01	0,07±0,02	0,07±0,01	0,09±0,01
R, мВ	0,31±0,02	0,32±0,02	0,31±0,02	0,32±0,03	0,33±0,03

Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5	6
S, мВ	0,24±0,01	0,25±0,02	0,25±0,02	0,25±0,01	0,26±0,01
T, мВ	0,19±0,02	0,19±0,02	0,19±0,02	0,20±0,02	0,21±0,02
PQ, мс	32,4±0,7	31,7±0,6	32,8±0,8	32,1±1,1	32,4±0,9
QT, мс	42,2±1,3	42,1±1,4	42,2±1,3	40,7±1,0	42,5±1,4
30 сутки, самцы					
P, мВ	0,07±0,01	0,09±0,02	0,09±0,01	0,07±0,01	0,08±0,01
R, мВ	0,35±0,03	0,34±0,03	0,35±0,03	0,36±0,02	0,35±0,03
S, мВ	0,23±0,02	0,25±0,01	0,24±0,01	0,26±0,02	0,25±0,02
T, мВ	0,20±0,02	0,21±0,02	0,21±0,02	0,19±0,01	0,20±0,02
PQ, мс	32,4±1,1	32,7±1,2	33,1±0,8	32,1±0,6	33,0±1,1
QT, мс	42,3±1,4	41,6±2,0	42,3±1,0	42,1±2,2	42,3±2,2
Фон, самки					
P, мВ	0,09±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01	0,09±0,01	0,08±0,01
R, мВ	0,31±0,02	0,32±0,02	0,31±0,03	0,30±0,02	0,32±0,02
S, мВ	0,23±0,01	0,24±0,01	0,25±0,03	0,25±0,03	0,24±0,01
T, мВ	0,18±0,02	0,17±0,01	0,19±0,02	0,20±0,02	0,19±0,02
PQ, мс	31,4±1,4	31,6±0,7	31,1±0,7	32,2±0,5	32,3±0,7
QT, мс	40,7±1,6	41,8±1,5	41,0±1,2	42,1±2,1	42,0±2,5
30 сутки, самки					
P, мВ	0,07±0,01	0,06±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01	0,08±0,01
R, мВ	0,32±0,01	0,32±0,02	0,31±0,02	0,30±0,02	0,32±0,01
S, мВ	0,24±0,02	0,23±0,02	0,24±0,02	0,23±0,02	0,23±0,01

Продолжение таблицы 41

1	2	3	4	5	6
T, мВ	0,19±0,01	0,18±0,01	0,17±0,01	0,19±0,02	0,20±0,02
PQ, мс	32,1±0,6	31,3±0,5	32,3±0,7	31,7±1,0	30,8±0,6
QT, мс	42,6±1,2	41,3±1,7	40,8±1,2	40,8±1,4	40,5±1,2

Из представленных в таблицах 40 и 41 данных следует, что 30-дневное ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» не вызвало изменений частоты сердечных сокращений и характера электрокардиограммы.

6.2.6. Влияние на двигательную и исследовательскую активность

В таблице 42 представлены данные по влиянию препарата «Сальбуфен» на спонтанную двигательную активность крыс (СДА). Крысы по одной помещались в регистрационную камеру автоматического регистратора производства компании «Ugo Basile», где за каждые 3 минуты у них регистрировалось количество движений.

Таблица 42 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на СДА белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
Самцы					
Фон горизонтальная	144,9±11,0	141,0±12,2	145,1±11,2	142,5±10,6	150,0±12,5
Фон вертикальная	39,5±2,3	37,8±4,4	37,6±3,2	38,6±2,3	38,6±2,4

Продолжение таблицы 42

1	2	3	4	5	6
30 суток горизонтальная	121,9±10,3	119,0±8,2	119,0±9,6	123,2±10,0	123,7±9,7
30 суток вертикальная	31,0±3,0	33,4±3,7	27,0±2,3	30,2±3,5	28,5±1,4
Самки					
Фон горизонтальная	142,2±12,3	143,6±10,5	142,8±11,2	139,2±11,6	141,8±12,1
Фон вертикальная	37,6±2,2	37,9±2,8	39,1±5,7	38,6±3,1	38,5±2,3
30 суток горизонтальная	118,5±9,2	118,3±8,8	125,2±11,1	124,3±10,7	128,4±11,7
30 суток вертикальная	35,1±2,1	32,7±3,4	34,0±2,4	37,2±3,5	33,3±3,3

Как видно из таблицы 42 достоверных изменений двигательной активности после 30-дневного введения препарата «Сальбуфен» у животных из всех экспериментальных групп не наблюдалось.

Данные по влиянию препарата «Сальбуфен» на структуру поведения крыс в «открытом поле» представлены в таблице 43. Эксперименты проведены на 10 животных каждого пола из каждой экспериментальной группы.

Таблица 43 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на структуру поведения белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальные группы и пол				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
Фон, самцы					
Латентный период, с	1,2±0,1	1,1±0,1	1,2±0,2	1,1±0,1	1,2±0,1
Горизонтальная активность	16,2±0,2	13,7±1,0	14,0±1,2	15,8±0,9	14,5±1,0
Вертикальная активность	1,6±0,1	2,0±0,3	1,7±0,5	1,4±0,3	1,4±0,2
Заглядывания	2,6±0,2	2,5±0,1	4,0±0,3	2,9±0,1	3,6±0,1
Груминг	1,0±0,1	0	0,8±0,1	0	0,9±0,1
Болюсы	1,2±0,2	1,6±0,2	2,2±0,2	1,4±0,3	1,3±0,3
30 сутки, самцы					
Латентный период, с	7,8±1,0	9,4±0,5	8,6±0,4	9,8±0,6	9,3±0,4
Горизонтальная активность	7,5±0,1	7,8±0,1	7,4±0,2	9,2±0,8	9,4±0,4
Вертикальная активность	1,1±0,3	0,8±0,2	0,9±0,2	0,8±0,2	0,9±0,1
Заглядывания	1,2±0,1	0,9±0,1	1,0±0,1	1,3±0,1	1,1±0,1
Груминг	0,1±0,1	0	0,1±0,1	0,1±0,1	0
Болюсы	2,6±0,1	2,0±0,3	1,0±0,1	1,5±0,3	1,2±0,1

Продолжение таблицы 43

1	2	3	4	5	6
Фон, самки					
Латентный период, с	1,2±0,1	1,1±0,2	1,6±0,1	1,1±0,1	1,4±0,1
Горизонтальная активность	16,3±0,6	14,5±0,7	14,0±0,2	15,0±0,8	15,2±0,9
Вертикальная активность	2,0±0,4	2,4±0,4	1,8±0,5	2,2±0,3	2,0±0,1
Заглядывания	4,0±0,2	2,8±0,3	2,4±0,6	2,5±0,1	2,8±0,3
Груминг	2,6±0,1	2,4±0,1	2,1±0,2	2,3±0,2	2,0±0,1
Болюсы	1,7±0,1	1,5±0,1	1,9±0,2	1,5±0,1	1,3±0,1
30 суток, самки					
Латентный период, с	9,3±0,7	10,1±0,7	9,5±0,8	9,1±0,7	9,8±0,7
Горизонтальная активность	12,0±0,8	11,0±0,8	10,6±0,6	12,5±0,6	10,6±0,3
Вертикальная активность	1,2±0,3	1,7±0,3	1,8±0,1	1,4±0,1	1,4±0,2
Заглядывания	1,3±0,2	0,7±0,1	0,9±0,1	1,0±0,1	0,9±0,1
Груминг	0,1±0,1	0	0,1±0,1	0	0,2±0,1
Болюсы	1,3±0,1	1,2±0,1	1,1±0,1	1,3±0,1	1,1±0,1

Как видно из представленных данных, достоверных изменений в структуре поведения животных из всех экспериментальных групп не наблюдалось.

Отмечалось характерное для животных, вторично помещаемых в ситуацию «открытого поля», изменение поведенческого рисунка за счёт удлинения латентного периода, снижения активности в опытных группах, оцениваемое по количеству вертикальных стоек, пересечений и заглядываний по сравнению с фоновыми данными.

6.2.7. Влияние на параметры функционального состояния почек

Исследование мочи проводили до эксперимента (фон) и на 30 день введения препарата. Полученные данные представлены в таблице 44.

Анализ полученных данных не выявил достоверных различий по физико-химическим свойствам, содержанию конечных продуктов метаболизма и патологических компонентов в пробах мочи между контрольными группами и группами, получавшими препарат. В пробах отсутствовали глюкоза, кетоновые тела, билирубин, уробилиноген и нитриты на протяжении всего исследования. Моча была в основном прозрачная, её цвет варьировался от светло-жёлтого до жёлтого.

Таблица 44 – Результаты анализа мочи у белых крыс-самцов при исследовании субхронической токсичности препарата «Сальбуфен» ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	Экспериментальные группы				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
Фон, самцы					
Количество выведенной мочи, мл	12,5±1,1	14,1±0,7	14,0±1,0	13,4±0,8	12,8±1,3
pH	6,38±0,12	6,46±0,13	6,45±0,12	6,39±0,12	6,43±0,12

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5	6
Удельный вес, г/мл	1,016± 0,002	1,017± 0,005	1,017± 0,003	1,018± 0,004	1,017± 0,002
Белок, г/л	3,1±0,2	3,2±0,2	3,0±0,1	3,0±0,2	3,1±0,1
Глюкоза, г/л	0	0	0	0	0
Билирубин, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Уробилиноген, мкмоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Кетоновые тела, ммоль/л, есть(1),нет(0)	0	0	0	0	0
Нитриты, ед.	0	0	0	0	0
Белок, г/л	0	0	0	0	0
Лейкоциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Эритроциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Цвет	От светло-жёлтого до жёлтого				
Прозрачность	Прозрачная				
30 сутки, самцы					
Количество выведенной мочи, мл	13,6±1,2	12,9±0,7	14,2±1,2	12,7±0,8	13,2±1,1

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5	6
pH	6,41±0,11	6,47±0,19	6,75±0,11	6,37±0,16	6,35±0,15
Удельный вес, г/мл	1,018± 0,004	1,017± 0,006	1,017± 0,003	1,017± 0,005	1,018± 0,002
Белок, г/л	3,0±0,2	3,1±0,2	3,0±0,1	3,1±0,2	3,0±0,1
Глюкоза, г/л	0	0	0	0	0
Билирубин, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Уробилиноген, мкмоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Кетоновые тела, ммоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Нитриты, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Лейкоциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Эритроциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Цвет	От светло-жёлтого до жёлтого				
Прозрачность	Прозрачная				

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5	6
Фон, самки					
Количество выведенной мочи, мл	12,9±1,2	14,0±0,7	12,6±0,7	13,8±0,6	13,5±0,5
pH	6,41±0,13	6,42±0,11	6,35±0,10	6,33±0,11	6,47±0,11
Удельный вес, г/мл	1,018± 0,002	1,016± 0,002	1,016± 0,002	1,018± 0,003	1,017± 0,002
Белок, г/л	3,2±0,1	3,2±0,2	3,1±0,2	3,1±0,2	3,1±0,1
Глюкоза, г/л	0	0	0	0	0
Билирубин, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Уробилиноген, мкмоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Кетоновые тела, ммоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Нитриты, ед.	0	0	0	0	0
Белок, г/л	0	0	0	0	0
Лейкоциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Эритроциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Цвет	От светло-жёлтого до жёлтого				
Прозрачность	Прозрачная				

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5	6
30 сутки, самки					
Количество выведенной мочи, мл	13,0±1,0	12,7±0,8	13,6±1,2	12,9±0,7	14,2±1,2
pH	6,38±0,15	6,37±0,16	6,41±0,11	6,47±0,19	6,75±0,11
Удельный вес, г/мл	1,016± 0,001	1,017± 0,003	1,018± 0,003	1,017± 0,002	1,018± 0,002
Белок, г/л	3,1±0,1	3,1±0,2	3,1±0,2	3,1±0,2	3,0±0,1
Глюкоза, г/л	0	0	0	0	0
Билирубин, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Уробилиноген, мкмоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Кетоновые тела, ммоль/л, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Нитриты, есть(1), нет(0)	0	0	0	0	0
Лейкоциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Эритроциты, клетки/мкл	0	0	0	0	0
Цвет	От светло-жёлтого до жёлтого				
Прозрачность	Прозрачная				

6.2.8. Влияние на показатели периферической крови

Биохимические и гематологические исследования проводились через 30 дней после ежедневного введения препарата. Статистическая обработка результатов проводилась по методу Стьюдента. Полученные данные представлены в таблицах 45 и 46.

Таблица 45 – Влияние ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на показатели периферической крови белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальные группы				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
30 сутки, самцы					
Гемоглобин, г/дл	13,2±0,2	12,8±0,1	13,6±0,1	13,7±0,1	13,6±0,1
Гематокрит, %	46,2±1,0	47,5±0,5	45,8±0,4	49,2±0,6	46,8±0,5
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,2±0,1	6,0±0,2	6,3±0,1	6,3±0,1	5,8±0,1
СОЭ, мм/ч	5,1±0,1	5,0±0,1	4,6±0,2	4,7±0,2	4,9±0,2
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	623±18	592±14	599±11	620±16	628±15
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,1±0,1	9,9±0,1	9,7±0,2	9,8±0,3	10,2±0,2
Нейтрофилы, %	16,2±0,8	15,9±0,8	16,1±0,7	16,0±0,9	15,3±0,3
Базофилы, %	0	0	0	0	0
Эозинофилы, %	3,1±0,1	3,0±0,1	3,1±0,2	3,0±0,1	3,2±0,2

Продолжение таблицы 45

1	2	3	4	5	6
Моноциты, %	3,4±0,1	3,3±0,1	3,5±0,1	3,2±0,1	3,4±0,1
Лимфоциты, %	73,8±0,8	74,8±1,0	72,9±0,8	80,1±0,6	76,0±0,9
Плазматические клетки, %	0,12±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,10±0,01
30 сутки, самки					
Гемоглобин, г/дл	12,6±0,1	13,3±0,1	13,0±0,1	12,8±0,1	13,2±0,1
Гематокрит, %	44,9±0,3	46,1±0,3	46,7±0,2	45,8±0,4	46,5±0,6
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,9±0,3	5,6±0,2	5,7±0,2	5,8±0,2	6,0±0,1
СОЭ, мм/ч	4,8±0,1	4,9±0,1	4,6±0,1	4,5±0,1	4,4±0,2
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	587±12	626±14	612±13	595±13	611±14
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,2±0,2	9,8±0,3	10,3±0,2	10,0±0,2	9,4±0,1
Нейтрофилы, %	16,3±0,9	16,2±0,7	15,8±0,7	16,8±0,9	15,8±0,6
Базофилы, %	0	0	0	0	0
Эозинофилы, %	3,0±0,2	3,1±0,1	3,0±0,1	2,9±0,1	2,8±0,1
Моноциты, %	3,1±0,1	3,2±0,2	3,3±0,1	3,0±0,1	3,1±0,1
Лимфоциты, %	76,3±0,3	76,0±0,4	75,8±0,5	74,4±0,5	75,2±0,5
Плазматические клетки, %	0,10±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,10±0,01

Лимфоциты имеют сильно пикнотическое ядро, иногда обнаруживается значительная азурофильная зернистость. Основная масса сегментоядерных клеток имеет нежную, нейтрофильную, не вполне ясно выраженную зернистость в мазках. Ядра эозинофильных клеток образованы из рыхлого хроматинового вещества и имеют почти круглую форму. Ядра эозинофилов и нейтрофилов образуются по кольчатому типу, поэтому нередко встречаются кольцеобразные ядра у палочковидных форм. Моноциты сильно отличаются от лимфоцитов. Последние равны по величине двум эритроцитам, имеют большое бобовидное ядро и широкую протоплазматическую кайму, которая окрашивается в синий или фиолетовый цвет с нежной грануляцией. Кровяные пластинки лежат большими кучками. Достоверных отличий между показателями контрольной и опытных групп не наблюдается. Половых различий не выявлено. Таким образом, периферическая кровь крыс всех экспериментальных групп после 30-дневного введения препарата «Сальбуфен» по своему количественному и качественному составу соответствовала видовой физиологической норме.

В таблице 46 представлены данные по влиянию ингаляционного введения препарата на основные биохимические показатели крови белых крыс.

Таблица 46 – Влияние субхронического ингаляционного введения препарата «Сальбуфен» на основные биохимические показатели периферической крови белых крыс (M±m)

Показатель	Экспериментальные группы				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
1	2	3	4	5	6
30 сутки, самцы					
Общий белок (г/л)	73,4±0,8	72,3±0,5	73,6±1,0	72,8±1,4	74,0±1,1
Аланинаминотрансфераза (Ед/л)	63,3±2,1	64,4±2,2	63,0±2,2	65,9±1,6	64,3±2,3
Аспаргатаминотрансфераза (Ед/л)	132,5±9,8	129,3±8,7	134,6±8,2	134,1±8,5	138,0±7,8
Лактатдегидрогеназа (Ед/л)	163,6±10,4	175,3±12,1	169,7±11,2	166,9±10,5	173,7±9,8
Щелочная фосфатаза (Ед/л)	116,0±7,9	119,8±9,6	120,6±9,6	117,9±9,8	121,4±9,8
Холестерин (ммоль/л)	41,2±3,3	43,8±2,2	45,9±3,5	44,5±1,2	41,2±2,4
Билирубин общий (ммоль/л)	9,4±0,1	10,2±0,1	9,4±0,2	10,7±0,1	10,9±0,1
Мочевина (ммоль/л)	7,24±0,3	6,55±0,3	6,68±0,3	7,34±0,4	6,87±0,3
Креатинин (мкмоль/л)	46,8±0,3	45,4±1,0	46,5±1,2	44,0±1,1	46,2±0,4

Продолжение таблицы 46

1	2	3	4	5	6
Глюкоза (ммоль/л)	7,2±0,1	7,6±0,1	7,7±0,1	7,8±0,1	7,7±0,4
Протромбиновое время, с	16±2	18±1	15±1	17±2	16±1
Na, ммоль/л	152,4±0,8	151,6±0,9	148,6±0,6	150,2±1,2	153,4±0,9
K, ммоль/л	4,8±0,2	5,1±0,5	4,7±0,2	4,6±0,4	4,7±0,5
Ca, ммоль/л	2,8±0,1	2,7±0,1	2,7±0,3	2,6±0,3	2,8±0,3
30 сутки, самки					
Общий белок (г/л)	71,5±0,7	70,4±0,6	71,2±1,0	73,0±0,8	72,8±0,7
Аланинаминотрансфераза (Ед/л)	59,6±3,1	65,8±3,7	68,3±3,8	64,2±3,4	64,7±4,3
Аспаргатаминотрансфераза (Ед/л)	134,5±10,4	146,7±8,9	136,4±7,6	139,8±9,2	145,5±10,4
Лактатдегидрогеназа (Ед/л)	155,0±11,5	166,8±12,0	155,4±11,7	165,7±11,9	168,9±10,2
Щелочная фосфатаза (Ед/л)	116,2±7,3	126,4±8,2	128,2±7,1	119,6±10,0	129,3±9,4
Холестерин (ммоль/л)	42,3±4,2	43,6±2,2	44,6±3,7	41,6±2,5	43,7±3,0
Билирубин общий (ммоль/л)	8,7±0,3	9,8±0,7	8,0±0,3	9,6±0,7	9,8±0,3
Мочевина (ммоль/л)	6,75±0,4	6,82±0,5	7,3±0,4	7,46±0,6	6,85±0,5

Продолжение таблицы 46

1	2	3	4	5	6
Креатинин (мкмоль/л)	44,5±1,1	45,6±0,5	43,9±0,6	44,3±1,0	45,9±1,1
Глюкоза (ммоль/л)	7,7±0,1	7,3±0,1	7,4±0,4	7,9±0,2	7,8±0,2
Протромбиновое время, с	16±2	17±1	18±1	17±1	18±1
Na, ммоль/л	152,3±0,5	147,0±0,8	153,4±0,4	149,8±1,1	151,5±0,7
K, ммоль/л	4,8±0,2	4,6±0,3	5,2±0,3	4,9±0,2	5,3±0,3
Ca, ммоль/л	2,6±0,2	2,7±0,2	2,8±0,2	2,6±0,1	2,5±0,2

В результате проведенного исследования выявлено, что во всех экспериментальных группах животных содержание общего белка не изменилось. Уровень глюкозы в сыворотке крови в группах, где вводили препарат, оставался на уровне контрольной группы. Активность аминотрансфераз АсАТ и АлАТ, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ) достоверно не изменялась во всех экспериментальных группах. Концентрации холестерина, общего билирубина и креатинина находились в пределах референтных значений.

Измерение протромбинового времени также не выявило статистически значимых различий между контрольными группами и группами, получавшими препарат.

Таким образом, ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в течение 30 дней в исследованных терапевтических дозах у крыс не оказывает токсического влияния на почки, белковый, жировой, углеводный и электролитный виды обмена веществ организма белых крыс, не вызывает нарушение функции печени и не влияет на свёртывающую систему крови.

6.2.9. Данные патоморфологического исследования

В разделе обобщены данные некропсии животных всех исследованных групп, включая интактных крыс, так как по результатам макроскопического изучения исследованных органов различий между группами не установлено.

Крысы правильного телосложения. При наружном осмотре у животных выделений из глаз, ушей, ануса, наружных половых органов не обнаружено. Видимые слизистые оболочки глаз, носовой и ротовой полостей бледно-розового цвета, блестящие. Внешний вид волосяного покрова гладкий, блестящий. Шерсть хорошо удерживается в коже. Очагов облысения не наблюдается. Кожа эластичная. У самок при пальпации молочных желез уплотнений не выявлено, выделения отсутствуют. У самцов половые органы развиты правильно. Конечности без деформаций и отеков.

При вскрытии брюшная и грудная полости жидкости не содержат. Положение органов анатомически правильное. Брюшина гладкая, блестящая.

Сальник без видимых жировых отложений. Parietalный и висцеральный листки плевры и брюшины тонкие, блестящие, гладкие.

Подчелюстные лимфатические узлы не увеличены, овальной формы, бледно-розового цвета с гладкой поверхностью, поверхность разреза однородной окраски.

Слюнные железы овальной формы, бледно-розового цвета, имеют гладкую поверхность.

Щитовидная железа красноватого цвета, умеренно плотной консистенции, доли одинаковой удлинённой формы и величины. Тимус треугольной формы, беловатого цвета, умеренно плотной консистенции, размер без изменений.

Интима аорты гладкая, блестящая, беловатого цвета, диаметр не изменен. Сердечная сорочка гладкая, тонкая, в её полости нет жидкости. Сердце свободно лежит в полости сердечной сорочки. Величина и форма сердца не изменены. Левый желудочек сокращён, правый желудочек содержит незначительное количество тёмной жидкой крови. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Эпикард и эндокард блестящие, гладкие. Мышца сердца при разрезе коричневого цвета, умеренно плотная.

Слизистая оболочка гортани, трахеи и крупных бронхов гладкая, блестящая, беловатого цвета. В просвете гортани и трахеи нет содержимого. Кольца трахеи и хрящи гортани целостны.

Лёгкие равномерно бледно-розового цвета, умеренно воздушные, эластичные, без уплотнений.

Слизистая пищевода блестящая, гладкая, беловатого цвета. Желудок нормальной величины и формы, заполнен кашицеобразным содержимым. Слизистая оболочка безжелезистой части желудка складчатая, розового цвета, блестящая. Слизистая оболочка тела желудка складчатая, розового цвета, блестящая.

Слизистая оболочка тонкого кишечника бледно-розового цвета, блестящая, гладкая. Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, гладкая, блестящая.

Печень имеет округлую форму, не увеличена. Поверхность печени гладкая, однородной тёмно-красной окраски, капсула тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезе полнокровная, умеренно плотная.

Поджелудочная железа плоской формы, светло-серого цвета, дольчатая, умеренно плотной консистенции.

Селезенка имеет вытянутую форму, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции. Поверхность органа гладкая, блестящая, капсула тонкая.

Почки не увеличены: после продольного рассечения их половинки совмещаются. Поверхность почек коричневатого цвета, гладкая, капсула легко снимается. На разрезе органа хорошо видны границы коркового и мозгового вещества. Кровоизлияния отсутствуют.

Надпочечники овальной формы, с гладкой поверхностью, умеренно плотные. Корковое вещество желтовато-серого цвета, а мозговое — коричневатокрасный.

Мочевой пузырь заполнен прозрачной мочой. Слизистая оболочка пузыря гладкая, блестящая, белого цвета.

У самок матка обычной величины и формы. Рога матки тонкие, при разрезе слизистая оболочка гладкая, блестящая, бледно-розового цвета. Яичники бледно-розового цвета, с шероховатой поверхностью, умеренно плотные.

У самцов семенники беловатого цвета, анатомически правильные, развиты соответственно возрасту.

Оболочка головного мозга гладкая, прозрачная, тонкая. Мозг обычной плотности, гладкий на разрезе. На фронтальных разрезах мозга отчетливо выделяются серое и белое вещество. Желудочки мозга обычной величины, расширений нет. Конфигурация мозга анатомически правильная.

В таблицах 47 и 48 представлены данные по массовым коэффициентам органов белых крыс из всех экспериментальных групп.

Таблица 47 – Массовые коэффициенты (МК) внутренних органов белых крыс-самцов после 30-дневного ингаляционного введения препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель	Экспериментальная группа				
	Интakтные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Сердце	3,4±0,2	3,5±0,1	3,6±0,1	3,4±0,1	3,7±0,2
Лёгкие с трахеей	7,2±0,1	7,8±0,1	7,5±0,1	7,9±0,1	7,8±0,1
Тимус	0,95±0,02	0,99±0,03	0,96±0,05	0,97±0,02	0,99±0,02
Печень	36,0±1,2	35,7±1,1	37,5±1,0	36,3±1,3	38,8±1,0
Селезёнка	3,9±0,2	3,8±0,1	3,7±0,3	3,9±0,2	3,8±0,2
Почка (левая)	3,6±0,1	3,8±0,2	3,5±0,1	3,7±0,2	3,8±0,3
Почка (правая)	3,5±0,1	3,6±0,1	3,7±0,2	3,8±0,1	3,7±0,2
Надпочечники	0,13±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,14±0,01
Головной мозг	8,4±0,2	8,5±0,1	8,6±0,2	8,4±0,1	8,6±0,2
Яички	12,5±0,2	12,4±0,3	12,6±0,2	12,0±0,3	12,5±0,2

Таблица 48 – Массовые коэффициенты (МК) внутренних органов белых крыс-самок после 30-дневного ингаляционного введения препарата «Сальбуфен», г/кг веса тела ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель	Экспериментальная группа				
	Интактные	Контроль	«Сальбуфен» 1 доза	«Сальбуфен» 2 доза	«Сальбуфен» 3 доза
Сердце	3,3±0,2	3,4±0,1	3,5±0,1	3,5±0,1	3,6±0,1
Лёгкие с трахеей	7,3±0,1	7,5±0,1	7,8±0,1	7,7±0,1	7,9±0,1
Тимус	0,94±0,02	0,97±0,01	0,98±0,05	0,96±0,02	0,97±0,01
Печень	36,5±1,0	36,3±0,8	37,2±1,0	36,9±1,3	37,6±1,1
Селезёнка	3,8±0,2	3,7±0,1	3,6±0,3	3,8±0,2	3,7±0,2
Почка (левая)	3,5±0,1	3,4±0,2	3,4±0,1	3,2±0,2	3,3±0,1
Почка (правая)	3,4±0,1	3,5±0,1	3,5±0,2	3,6±0,1	3,4±0,2
Надпочечники	0,12±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01
Головной мозг	8,3±0,2	8,2±0,1	8,4±0,2	8,3±0,1	8,2±0,2
Яичники	0,22±0,01	0,23±0,01	0,21±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01

Из приведённых таблиц 47 и 48 следует, что достоверных отличий массовых коэффициентов внутренних органов крыс ни в одной из опытных групп от контрольных не наблюдается.

Таким образом, 30-дневное ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в трёх дозах, не вызывает заметных морфологических изменений внутренних органов, в том числе головного мозга, и не оказывает местного раздражающего действия на лёгкие.

6.2.10. Результаты гистологического исследования

Гистологические исследования проводились совместно с научным сотрудником лаборатории морфологии и электронной микроскопии №9 Авагяном К.Л. Объекты фиксировали в 15% формалине или в 96% спирте и заливали в парафин. Срезы внутренних органов окрашивали гематоксилин-эозином, срезы головного мозга окрашивали по Ниссля. При просмотре гистологических препаратов изучаемых органов контрольных животных и животных, получавших максимальную дозу препарата, различий между группами не обнаружено.

Цитоархитектоника коры больших полушарий головного мозга не изменена, очаги выпадения отсутствуют. Сосуды мозговых оболочек умеренно полнокровные, кортикальные сосуды равного диаметра. Содержат эритроциты в единичном количестве. Признаков острого или хронического заболевания нейронов нет. Ядра нейронов светлые, ядерная мембрана тонкая, ядрышки чёткие. В цитоплазме присутствует достаточное количество хроматофильной зернистости Ниссля — пылевидной в цитоплазме нейронов 2-3-го слоев и более крупной — в цитоплазме нейронов 5-го слоя коры больших полушарий. Нейроны ядерных образований среднего и продолговатого мозга содержат крупные глыбки тигроида. Ядра глиальных и нервных клеток изменений не представляют — ядерная мембрана тонкая, содержание хроматина в норме, ядрышки чёткие.

Клетки эндотелия внутренней оболочки аорты с чёткими ядрами. Деструкции эластических волокон средней оболочки не наблюдается.

Поперечная исчерченность миофибрилл во всех отделах сердца отчётливая, в ядрах кардиомиоцитов присутствует достаточное количество хроматина, ядерная оболочка тонкая. Очагов нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы не наблюдается. Кардиофиброза нет.

Эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов без изменений, ядра чёткие. Альвеолы долей лёгких содержат воздух. Ядра альвеолярного эпителия чёткие,

цитоплазма оксифильная. Эпителий внутрилёгочных бронхов не изменён. Острых воспалительных изменений лёгочной ткани нет.

Трабекулярное строение печени на срезах не нарушено. Границы гепатоцитов чёткие, цитоплазма зернистая, слабооксифильная. Очаговые нарушения тинкториальных свойств цитоплазмы не наблюдаются. В ядрах — чёткие ядрышки, количество хроматина достаточное. Ядерная мембрана тонкая. Синусоиды печени полнокровные.

Капилляры клубочков и интерстициальной ткани почек полнокровные, цитоплазма эпителия проксимальных канальцев почек оксифильная, клеточные границы хорошо различимы, ядра нефроэпителия чёткие, светлые.

Сосуды коры и мозгового вещества надпочечников полнокровные. Все зоны коры надпочечников чётко выражены, в клеточных ядрах содержится достаточное количество хроматина. Цитоплазма клеток пучковой зоны вакуолизирована за счёт содержания большого количества липидов. Клетки мозгового вещества крупные, правильной овальной формы, объединены в гроздья и тяжи.

Лимфоретикулярные элементы селезёнки и лимфатических узлов с чёткими ядрами, деструкции или атрофии фолликулов не наблюдается. В красной пульпе селезёнки заметны очаги кроветворения, содержащие единичные мегакариоциты.

Слизистая оболочка безжелезистой части желудка выстлана многослойным плоским эпителием, клетки эпителия без изменений. Покровный эпителий слизистой тела желудка образован слизистыми клетками цилиндрической формы, дефектов эпителиальной выстилки не наблюдается. Главные и обкладочные клетки желез тела желудка без изменений. Дефекты многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой пищевода отсутствуют. Покровный эпителий слизистой оболочки тонкой кишки сохранен.

Дольчатое строение поджелудочной железы сохранено. Клетки островков Лангерганса содержат чёткие, светлые ядра, цитоплазма слабооксифильная. Эпителиальные клетки внешнесекреторной части железы базофильные, ядра в средней части чёткие, содержат достаточное количество хроматина. Сосуды стромы поджелудочной железы умеренно полнокровные.

Фолликулы щитовидной железы заполнены небольшим количеством слабовакуолизированного, оксифильного коллоида. Эпителий фолликул обычной высоты, ядра чёткие. Сосуды стромы умеренно полнокровные.

Строение подчелюстных желез без изменений. Эпителиальные клетки концевых отделов и выводных протоков содержат чёткие ядра, деструкции клеток не наблюдается.

Тимус имеет выраженное дольчатое строение. Кортиковое вещество долек заполнено лимфоцитами/тимоцитами. Мозговое вещество содержит меньшее количество лимфоцитов, а также эпителиальные клетки, местами образующие концентрические фигуры и тельца Гассалья. Строма тимуса умеренно полнокровная.

Клетки семенных канальцев яичек крыс-самцов находятся на разных стадиях сперматогенеза. Эпителий семенных канальцев и интерстициальные клетки без изменений. В корковом веществе яичников крыс-самок видны фолликулы разных величин и степеней созревания. Фолликулярный эпителий без изменений, ядра чёткие, светлые, мозговое вещество яичников полнокровное.

Таким образом, 30-дневное ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в трёх дозах, не вызывает заметных морфологических и гистологических изменений внутренних органов, в том числе головного мозга, и не оказывает местного раздражающего действия на эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов. Острые воспалительные изменения лёгочной ткани отсутствуют.

6.3. Результаты, полученные при изучении местнораздражающего действия модельного образца лекарственной формы комплексного аэрозольного препарата в опытах на грызунах

6.3.1. Конъюнктивальная проба

Ни у одного животного опытной или контрольной групп не было выявлено реакции на введение препарата или дистиллированной воды.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии у препарата раздражающих свойств, выявляемых в конъюнктивальной пробе.

6.3.2. Патоморфологическое исследование

Оценку местнораздражающего действия исследуемого препарата проводили во время процедуры макроскопического и гистологического исследования внутренних органов.

По результатам патоморфологического исследования просвет трахеи и крупных бронхов без изменений, слизистая оболочка блестящая, гладкая, бледного цвета. Лёгкие воздушные, на ощупь без уплотнений, бледно-розовой окраски.

Гистологическое исследование показало, что эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов без изменений, ядра чёткие. Альвеолы долей лёгких содержат воздух. Ядра альвеолярного эпителия чёткие, цитоплазма оксифильная. Эпителий внутрилёгочных бронхов не изменён. Острых воспалительных изменений лёгочной ткани нет (рисунок 13).

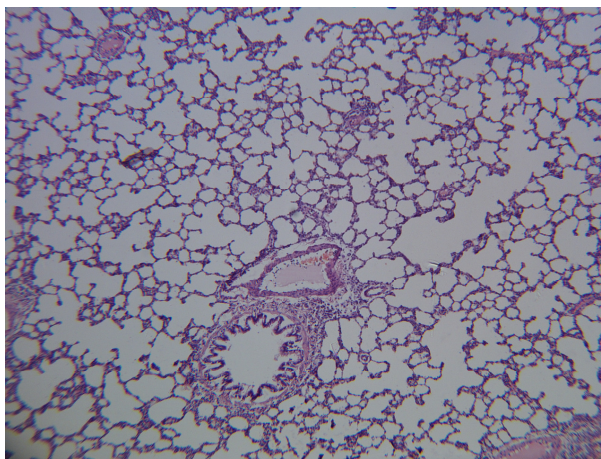


Рисунок 13 – Лёгкое. Нормальное строение органа.

Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 100

Полученные данные патоморфологического и гистологического исследования позволяют сделать вывод, что у препарата «Сальбуфен» при ингаляционном способе введения местнораздражающее действие отсутствует.

6.4. Расчёт индекса безопасности препарата «Сальбуфен» при клиническом применении

На основании результатов субхронического эксперимента можно рассчитать индекс безопасности (ИБ) препарата при применении в клинике в соответствии с прилагаемой инструкцией [Гуськова Т.А., 2003]: крысы — доза 30 мг/кг; длительность введения — 30 дней. Гибели нет. Расчётный безопасный курс (РБК) препарата в днях равен:

$$\text{РБК} = \frac{30 \text{ мг/кг} \times 30}{0,05 \text{ мг/кг} \times 5,9} = 3051 \text{ день,}$$

а индекс безопасности (ИБ) составляет:

$$\text{ИБ} = \frac{3051}{30} = 101,7$$

В соответствии с классификацией опасности лекарственных препаратов для клинического применения (ИБ > 5) «Сальбуфен» относится к III классу малотоксичных (малоопасных) лекарственных препаратов (таблица 49).

Таблица 49 – Классы токсичности (опасности) лекарственных препаратов для клинического применения по Т.А. Гуськовой [Гуськова Т.А., 2003]

Классы токсичности	Значение ИБ
I класс (высокотоксичные)	(ИБ < 1)
II класс (умеренно токсичные)	(ИБ от 1 до 5)
III класс (малотоксичные)	(ИБ > 5)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов разработаны и валидированы экспериментальные модели острых ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном, а также модель ХНЗЛ, определены токсодозы пульмонотоксикантов для последующей оценки эффективности и переносимости отобранных лекарственных средств, а затем и нового комплексного аэрозольного препарата «Сальбуфен».

Проведенные экспериментальные исследования позволили оценить эффективность, полноту лечебного действия, влияние на структурные и функциональные изменения, вызываемые пульмонотоксикантами в паренхиме лёгких, отобранных фармакологических антагонистов хлора, аммиака и фосгена.

В ходе экспериментов показано, что наибольшей эффективностью отобранные препараты обладают при поражениях аммиаком, чуть меньшей — при поражениях хлором и ещё меньшей при поражениях фосгеном. Следует отметить достаточную полноту лечебного действия исследованных препаратов в отношении основных систем организма: нервной, дыхательной и сердечно-сосудистой.

В экспериментах на крысах определены ключевые показатели эффективности лечения при поражениях пульмонотоксикантами (показатель потребления кислорода, весовой коэффициент лёгких, показатели цитолиза альвеолоцитов, показатели эндогенной интоксикации).

Показано, что применение отобранных препаратов положительно сказывалось на интенсивности потребления кислорода. Стабилизировались клеточные мембраны альвеолоцитов, что проявлялось в снижении активности в крови маркеров цитолиза (КФ, ЩФ). Детоксицирующие системы лёгких активировались, что подтверждалось снижением в крови показателей эндогенной интоксикации (токсемии) — ОП и ВНиСММ. Величина ВКЛ, характеризующая степень отёка лёгких, практически не изменялась по сравнению с интактными животными. Эти результаты позволили раскрыть механизм положительного

влияния препаратов на структурные и функциональные изменения паренхимы лёгких.

Основываясь на характере изменений ключевых показателей тяжести интоксикации, изучен механизм протекторного действия отобранных препаратов при монотерапии и сочетанном применении. Это позволило обосновать рецептуру нового комплексного аэрозольного препарата на основе β_2 -адреномиметика и Н-холинолитика «Сальбуфен» и возможность его использования для лечения острых ингаляционных поражений АХОВ из группы пульмонотоксикантов.

Учитывая то, что механизм токсического действия пульмонотоксикантов на структуру и функцию лёгких схож, разработанный препарат «Сальбуфен» можно использовать при лечении не только поражений аммиаком, хлором и фосгеном, но и другими раздражающими веществами.

ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России наработана лабораторная партия комплексного аэрозольного препарата «Сальбуфен» на основе β_2 -адреномиметика и Н-холинолитика, что позволило изучить его переносимость и эффективность при поражениях раздражающими сильнодействующими ядовитыми веществами.

Препарат испытан на моделях токсических поражений лёгких аммиаком, хлором и фосгеном. Показано, что рецептура при ингаляционном применении повышает выживаемость животных при тяжёлых затравках в 2-3 раза, снижает степень лёгочной гидратации, уменьшает проявления бронхообтурации за счёт повышения антиоксидантных резервов лёгких и активности лёгочных сурфактантов.

На модели ХНЗЛ продемонстрирована лечебно-профилактическая эффективность препарата «Сальбуфен» по предотвращению приступов бронхообтурации и развития воспалительных изменений в лёгких. В связи с этим, возможно использование препарата «Сальбуфен» в качестве лечебно-профилактического средства для предупреждения развития и снижения тяжести течения ХНЗЛ.

Разработаны практические рекомендации и проект инструкции по применению нового комплексного аэрозольного препарата для лечения

ингаляционных поражений АХОВ из группы пульмонотоксикантов (Приложение 1). Препарат «Сальбуфен» предлагается использовать для лечения пострадавших при чрезвычайных ситуациях и авариях на объектах промышленного производства. Также препарат «Сальбуфен» может быть использован в профилактических целях населением районов смежных с районом возникновения чрезвычайной ситуации на этапах информирования населения об угрозе отравления АХОВ и эвакуации в безопасную зону.

Результаты диссертационной работы будут способствовать повышению качества медицинского обеспечения при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций химической природы.

Таким образом, задачи диссертационной работы «Экспериментальное обоснование комплексного лекарственного средства для ингаляционного применения при поражениях, вызванных пульмонотоксикантами» выполнены полностью.

ВЫВОДЫ

1. Острые ингаляционные воздействия на белых крыс хлором в концентрации 5 мг/л в течение 15 минут, аммиаком в концентрации 20 мг/л в течение 20 минут, фосгеном в концентрации 1,5 мг/л в течение 60 минут приводят к развитию тяжёлых отравлений, сопровождающихся гибелью 100% животных вследствие развития бронхообтурационного синдрома и гипергидратации лёгких.

2. Наиболее эффективными среди исследуемых лекарственных средств при монотерапии острых тяжёлых поражений аммиаком, хлором и фосгеном являются эуфиллин, преднизолон, сальбутамол и педифен. Основными показателями эффективности исследуемых лекарственных препаратов при отравлении пульмонотоксикантами являются выживаемость и время гибели экспериментальных животных, величина весового коэффициента лёгких и показатели внешнего дыхания.

3. Лечебное применение эуфиллина в/м в дозе 10 мг/кг + преднизолона в/м в дозе 5 мг/кг, эуфиллина в/м в дозе 10 мг/кг + сальбутамола ингаляционно в дозе 1 мг/кг, преднизолона в/м в дозе 5 мг/кг + сальбутамола ингаляционно в дозе 1 мг/кг, а также сальбутамола в дозе 1 мг/кг + педифена в дозе 2,5 мг/кг ингаляционно при поражениях пульмонотоксикантами оказывают выраженное лечебное действие: повышают выживаемость животных, облегчают течение интоксикации, уменьшают гидратацию лёгочной ткани, снижая величину ВКЛ в 2-2,5 раза.

4. Сочетание β_2 -адреномиметика сальбутамола в дозе 1 мг/кг и Н-холинолитика педифена в дозе 2,5 мг/кг при ингаляционном применении через 1 минуту после окончания воздействия пульмонотоксикантами оказывает выраженное лечебное действие, обеспечивая выживаемость животных на уровне сочетанного парентерального введения эуфиллина с преднизолоном и сочетанного внутримышечного введения преднизолона с ингаляционным введением сальбутамола.

5. Препарат «Сальбуфен» при ингаляционном применении повышает выживаемость экспериментальных животных при смертельных поражениях хлором,

аммиаком и фосгеном в среднем в 2-3 раза, снижает ВКЛ в 2-2,5 раза, снижает степень лёгочной гидратации, уменьшает проявления бронхообтурации за счёт повышения антиоксидантных резервов лёгких и активности лёгочных сурфактантов.

6. Препарат «Сальбуфен» при лечебно-профилактическом применении предупреждает развитие и снижает тяжесть течения экспериментальных ХНЗЛ у крыс, что свидетельствует о его эффективности и возможности применения для лечения ХНЗЛ.

7. Результаты токсикометрии, данные некропсии и наблюдений за экспериментальными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления позволяют отнести лекарственную форму препарата «Сальбуфен» к IV классу малотоксичных лекарственных веществ, так как величина ЛД₅₀ при в/ж введении для крыс в среднем для самцов и самок составляет 735 мг/кг и попадает в соответствующий интервал токсичности. По данным некропсии острое в/ж и ингаляционное введения крысам и в/ж введение мышам препарата «Сальбуфен» не вызывает макроскопических изменений внутренних органов, органов эндокринной системы и головного мозга подопытных белых крыс, а также не сопровождается воспалительными изменениями или раздражением слизистых оболочек рта, глотки, гортани, пищевода, желудка и кишечника.

8. Субхроническое ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в течение 30 дней в исследованных терапевтических дозах у крыс не оказывает негативного влияния на вес животных, потребление корма и воды, ректальную температуру, не вызывает изменений частоты сердечных сокращений и характера электрокардиограммы, не оказывает токсического влияния на почки, белковый, жировой, углеводный и электролитный виды обмена веществ организма белых крыс, не вызывает нарушение функции печени и не влияет на свёртывающую систему крови. Периферическая кровь крыс всех экспериментальных групп после 30-дневного введения препарата «Сальбуфен» по своему количественному и качественному составу соответствовала видовой физиологической норме. Субхроническое 30-дневное ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в трёх дозах, не вызывает заметных морфологических и гистологических изменений

внутренних органов, в том числе головного мозга, и не оказывает местного раздражающего действия на эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов. Острые воспалительные изменения лёгочной ткани отсутствуют.

9. Разработанный комплексный препарат «Сальбуфен» является эффективным и безопасным перспективным лекарственным средством для лечения поражений пульмонотоксикантами и длительного лечения ХНЗЛ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанные экспериментальные модели тяжёлых ингаляционных поражений пульмонотоксикантами рекомендуется использовать для оценки эффективности перспективных лекарственных средств.

2. Разработанный препарат «Сальбуфен» рекомендуется использовать в качестве лечебного и профилактического средства на этапах медицинской эвакуации поражённых пульмонотоксикантами.

3. Препарат «Сальбуфен» может быть рекомендован в качестве лечебно-профилактического средства при ХНЗЛ.

4. Материалы доклинического изучения и проект инструкции по применению препарата «Сальбуфен» могут быть использованы при регистрации препарата в МЗ РФ его производителем и держателем ФСП ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

GLP	— «Good Laboratory Practice» — «Надлежащая лабораторная практика»
LC ₅₀	— среднесмертельная концентрация
LCt ₅₀	— среднесмертельная токсодоза
LD ₅₀	— среднесмертельная доза
pCO ₂	— парциальное давление углекислого газа в крови
pH	— водородный показатель
pO ₂	— парциальное давление кислорода в крови
Q _{O2}	— интенсивность потребления кислорода организмом
q _{O2}	— среднее потребление кислорода за 1 дыхательный цикл
АД	— артериальное давление
АК	— аскорбиновая кислота
АКТГ	— адренкортикотропный гормон
АлАТ	— аланинаминотрансфераза
АМ	— альвеолярный макрофаг
АсАТ	— аспартатаминотрансфераза
АХОВ	— аварийно химически опасные вещества
БАС	— бронхоальвеолярные смывы
в/в	— внутривенно
в/ж	— внутрижелудочно
в/м	— внутримышечно
ВКЛ	— весовой коэффициент лёгких
ВНиСММ	— вещества низкой и средней молекулярной массы
Г-SH	— восстановленный глутатион
ГКС	— глюкокортикостероиды
ГОМК	— гамма-оксимасляная кислота
ЕД	— единица действия
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт

ИБ	—	индекс безопасности
ИВЛ	—	искусственная вентиляция лёгких
инг.	—	ингаляционно
КОС	—	кислотно-основное состояние
КФ	—	кислая фосфатаза
ЛД ₅₀	—	среднесмертельная доза
ЛДГ	—	лактатдегидрогеназа
МДА	—	малоновый диальдегид
МК	—	массовый коэффициент
НЛ	—	нейтрофильный лейкоцит
ОВ	—	отравляющие вещества
ОП	—	олигопептиды
ОЦК	—	объём циркулирующей крови
п/к	—	подкожно
ПДК	—	предельно допустимая концентрация
ПН	—	поверхностное натяжение
ПОЛ	—	перекисное окисление липидов
РБК	—	расчётный безопасный курс
РДСВ	—	респираторный дистресс-синдром взрослых
СДА	—	спонтанная двигательная активность
СДЯВ	—	сильнодействующие ядовитые вещества
СПП	—	суммационно-подпороговый показатель
СРБ	—	С-реактивный белок
ТТГ	—	тиреотропный гормон
ФДЭ	—	фосфодиэстераза
ФСГ	—	фолликулостимулирующий гормон
ХНЗЛ	—	хронические неспецифические заболевания лёгких
цАМФ	—	циклический аденозинмонофосфат
ЦНС	—	центральная нервная система
ЦОГ	—	циклооксигеназа

ЧД	— частота дыхания
ЧДД	— частота дыхательных движений
ЧС	— чрезвычайная ситуация
ЧСС	— частота сердечных сокращений
ЩФ	— щелочная фосфатаза
ЭКГ	— электрокардиограмма

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Обострение хронической обструктивной болезни лёгких: современные подходы к диагностике и лечению / С.Н. Авдеев // Терапевт. архив. – 2004. – №11. – С. 43-50.
2. Алексанин, С.С. Чрезвычайные ситуации химической природы: (химические аварии, массовые отравления; медицинские аспекты) / С.С. Алексанин, И.М. Астафьев, Ю.Ю. Бонитенко, Е.Ю. Бонитенко, А.М. Никифоров, Ю.Н. Остапенко, В.В. Степин, В.В. Шилов / Под ред. Ю.Ю. Бонитенко, А.М. Никифорова. – СПб.: Гиппократ, 2004. – 464 с.
3. Алексеев, Г.И. Организация медицинской помощи при химических авариях / Г.И. Алексеев, Б.П. Иванов, В.Н. Першин // Военно-медицинский журнал. – 1994. – №3. – С. 21-25.
4. Альберт, А. Избирательная токсичность / А. Альберт // Пер. с англ.: в 2 т. – М.: Медицина, 1989. – 824 с.
5. Бадюгин, И.О. Использование анестетических свойств стероидов в медицине / И.О. Бадюгин // Успехи соврем. биол. – 1964. – Т. 57. – №3. – С. 422-445.
6. Баранов, А.А. Концепция сокращения предотвратимых потерь здоровья детского населения / А.А. Баранов, В.Ю. Альбицкий, Р.Н. Терлецкая, Д.И. Зелинская // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – №5. – С. 8-12.
7. Беловолов, А.Ю. Фармацевтическая композиция на основе педифена для лечения поражения нелетальными раздражающими средствами / А.Ю. Беловолов, В.Д. Гладких, В.Ю. Ковтун, Р.В. Колосов, А.С. Самойлов, Н.В. Баландин, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова // Описание изобретения к патенту РФ 2496485. – 2013. – 49 с.
8. Березовская, И.В. К методологии стандартизации лабораторных животных в токсикологическом эксперименте / И.В. Березовская, Е.П. Капиносова, В.В. Тычинин // Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований. – М., 1988. – Ч. 1. – С. 7-11.

9. Берлянд, М.Е. РД-90. Методика прогнозирования масштабов заражения СДЯВ при авариях (разрушениях) на химически опасных объектах и транспорте / М.Е. Берлянд и др. – Л.: Гидрометеиздат, 1991. – 24 с.
10. Болдырев, В.Н. Немецкие удушливые газы и меры борьбы с ними / В.Н. Болдырев – М. – 1917. – 63 с.
11. Бонитенко, Е.Ю. Оценка влияния профилактического или лечебного введения лекарственных средств на летальный эффект токсикантов / Е.Ю. Бонитенко, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова и др. // Отчёт о НИР. Шифр «Ингаляция-10». – СПб: ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, 2010. – 39 с.
12. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М.: Высш. шк., 1991. – 399 с.
13. Вайль, С.С. Патологическая анатомия поражений, вызываемых отравляющими веществами / С.С. Вайль – Л., 1958.
14. Варенин, С.А. Медицинские аспекты анализа химических аварий / С.А. Варенин, Н.А. Поделякин // Военно-медицинский журнал. – 1992. – №9. – С. 4-7.
15. Гацура, В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 48 с.
16. Гильмундинов, В.М. Состояние здоровья населения России и причины его ухудшения / В.М. Гильмундинов, Л.К. Казанцева, Т.О. Тагаева // ЭКО. – 2009. – №2. – С. 125–143.
17. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
18. Глинка, Н.Л. Общая химия: Учеб. пособие для вузов / Под ред. А.И. Ермакова. – 30-е изд., испр. – М.: ИНТЕГРАЛ-ПРЕСС, 2005. – 728 с.
19. Голиков, С.Н. Опыт применения системного подхода к классификации токсических веществ / С.Н. Голиков, И.О. Бадюгин // Всесоюзная учредительная конференция по токсикологии (25-27 ноября 1980 г.). – М., 1980. – С. 192-193.

20. ГОСТ Р 53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. – М., 2009.
21. Гуськова, Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований / Т.А. Гуськова // Токсикологический вестник. – 2010. – №5 (104). – С. 2-5.
22. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М.: Русский врач, 2003. – 154 с.
23. Дементьева, Г.М. Способ лечения бронхообструктивного синдрома у новорожденных детей с пневмонией и трахеобронхитом / Г.М. Дементьева, Е.Д. Балашова, М.В. Кушнарера. – Патент РФ №2381040 от 24.03.2008.
24. Жамгоцев, Г.Г. Медицинская помощь поражённым сильнодействующими ядовитыми веществами (СДЯВ) / Г.Г. Жамгоцев, М.Б. Предтеченский. – М.: Медицина, 1993. – 208 с.
25. Жестков, В.П. Спектрофотометрическое измерение массовых концентраций N,N-диэтил-5,5-дифенил-2-пентиниламина гидрохлорида (педифен) в воздухе рабочей зоны / В.П. Жестков, А.П. Крымов, В.Ф. Алещенко, Л.И. Крымова // Методические указания МУК 4.1.1656-03. Методы контроля. Химические факторы. ГУП «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ», 2003. – 16 с.
26. Жилиев, Е.Г., Прогностическая оценка медицинских последствий химических аварий для населения и войск / Е.Г. Жилиев, С.Ф. Гончаров, А.К. Янушевский // Воен.-мед. журн. – 1994. – №6. – с. 16-20.
27. Забродский, П.Ф. Иммунотоксикология ксенобиотиков: Монография / П.Ф. Забродский, В.Г. Мандыч. – СВИБХБ, 2007. – С. 20.
28. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: Учебное пособие для биол. спец. вузов – 3-е изд., перераб. и доп. / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Западнюк и др. – Киев: Вища школа, 1983. – 383 с.

29. Зацепин, Э.П. Влияние центральных холинолитиков на процесс перекисного окисления липидов / Э.П. Зацепин, Н.Н. Чураев // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1987. – №8. – С. 195-197.
30. Иванова, В.Н. Методы исследования мочи и клинико-диагностическое значение показателей состава и свойств мочи: методические рекомендации / В.Н. Иванова, Ю.В. Первушин. – Ставрополь, 2005. – 49 с.
31. Каминский, С.Л. Средства индивидуальной защиты: справочник / С.Л. Каминский и др. – Л.: Химия, 1989. – 185 с.
32. Каркищенко, Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. – М.: Профиль–2С, 2010. – 358 с.
33. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии, Т. 2 / А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 2002. – 600 с.
34. Кацнельсон, Б.А. Профессиональные болезни полевой этиологии / Б.А. Кацнельсон. – М., 1986. – 235 с.
35. Кобзарь, А.И. Прикладная математическая статистика / А.И. Кобзарь — М.: Физматлит, 2006. – 816 с.
36. Козлитин, А.М. Чрезвычайные ситуации техногенного характера. Прогнозирование и оценка. Детерминированные методы количественной оценки опасностей техносферы: Учеб. пособие / А.М. Козлитин, Б.Н. Яковлев / Под ред. А.И. Попова. Саратов: Саратов. гос. техн. ун-т, 2000. – С. 40.
37. Колб, В.Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск, 1982.
38. Колбасов, С.Е. Использование метода определения активности сурфактанта лёгких для изучения токсичности химических веществ при ингаляционном воздействии / С.Е. Колбасов // Гигиеническая токсикология металлов. – М., 1983. – С. 92-96.
39. Колбасов, С.Е. Разработка комплексного аэрозольного препарата для лечения поражений дыхательной системы раздражающими веществами /

С.Е. Колбасов. – Соционет, 2012 г. – Режим доступа: <https://socionet.ru/publication.xml?h=spz:citis:regkar:01201266185&type=project>.

40. Колосов, Р.В. Фармацевтическая композиция на основе педифена для лечения поражения нелетальными раздражающими средствами / Р.В. Колосов, А.Ю. Беловолов, В.Б. Назаров, В.Д. Гладких. – Патент РФ №2496485.

41. Коржевский, Д.Э. Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов-гистологов / Д.Э. Коржевский. – СПб: «Кроф», 2005. – 48 с.

42. Костюченко, А.Л. Угрожающие жизни состояния в практике врача первого контакта: справочник / А.Л. Костюченко – СПб.: Спец. лит., 1998. – 248 с.

43. Кулагин, В.К. Некоторые методологические аспекты изучения патогенеза и разработки экспериментальной терапии экстремальных состояний / В.К. Кулагин // Изучение экстремальных состояний. Труды КГМИ. – Казань, 1976. – т. 48. – с. 5-9.

44. Курашов, О.В. Интенсивная терапия острых отравлений / О.В. Курашов. – Киев: НМУ, 1998. – 145 с.

45. Курляндский, Б.А., Филова, В.А. Общая токсикология / Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – 608 с.

46. Куценко, С.А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита: Учебник / Под ред. С.А. Куценко. – СПб.: Фолиант, 2004. – 526 с.

47. Куценко, С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание / С.А. Куценко. – СПб.: «Издательство Фолиант», 2004. – 720 с.

48. Куценко, С.А., Преображенская, Т.Н. Вещества пульмонотоксического действия (лекция) / С.А. Куценко, Т.Н. Преображенская // Болезни органов дыхания. – 2008. – №1. – С. 61-66.

49. Лабори, А. Регуляция обменных процессов: пер. с франц. / А. Лабори. – М.: Медицина, 1970. – 382 с.

50. Лазарева, Г.Ю. Справочник фельдшера / Г.Ю. Лазарева. – М.: РИПОЛ классик, 2010. – 640 с.

51. Лазарева, Д.Н. Стимуляторы иммунитета / Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин. – М.: Медицина, 1985. – 256 с.

52. Локтионов, С.И. Неотложная помощь при острых отравлениях / С.И. Локтионов, Е.А. Лужников / Под ред. С.Н. Голикова. М.: Медицина, 1977. – 311 с.
53. Лос, К. Синтетические яды / Под ред. И.Л. Кнунянца // Пер. с немецкого. – М.: Издательство иностранной литературы, 1963. – С. 69-70.
54. Лосев, Н.А. Способ лечения больных с бронхообструктивным синдромом / Н.А. Лосев, А.И. Кирсанов, Л.А. Шестакова. – Патент РФ №96115861 от 06.08.1996.
55. Лужников, Е.А. Медицинская токсикология: национальное руководство / Под ред. Е.А. Лужникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.
56. Лужников, Е.А. Основы реаниматологии при острых отравлениях / Е.А. Лужников, В.Н. Дагаев, Н.Н. Фирсов. – М.: Медицина, 1977. – 375 с.
57. Лужников, Е.А. Острые отравления: Руководство для врачей – 2-е изд., перераб. и доп. / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.
58. Лужников, Е.А., Неотложные состояния при острых отравлениях (диагностика, клиника, лечение) / Е.А. Лужников, Ю.Н. Остапенко, Г.Н. Суходолова. – М.: Медпрактика, 2001. – 219 с.
59. Лужников, Е.А. Клиническая токсикология – 4-е изд., перераб. и доп. / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. – М.: Мед. информ. агенство, 2008. – 567 с.
60. Лужников, Е.А. Острые отравления у взрослых и детей / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. – М.: Эксмо, 2009. – 560 с.
61. Малахова, М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации. Пособие для врачей / М.Я. Малахова. – СПб: МАПО, 1995. – С. 34.
62. Мельник, М.Г. Способ лечения хронической обструктивной болезни лёгких / М.Г. Мельник. – Патент РФ №2458686 от 07.04.2011.
63. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1980. – 320 с.
64. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 406 с.

65. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Изд-во Гриф и К, 2012. – 944 с.
66. Мишук, В.П. Способ лечения бронхоспазма М-холинолитиками больных фиброзно-кавернозным туберкулезом лёгких/ В.П. Мишук, Л.В. Блинникова, А.В. Ланжук. – Патент РФ №2322983 от 02.11.2006.
67. Мясников, В.В. Защита от оружия массового поражения / Под ред. В.В. Мясникова. – М.: Воен. изд-во, 1989. – 400 с.
68. Нечаев, Э.А. Военная медицина и катастрофы мирного времени / Э.А. Нечаев, М.Н. Фаршатов. – М.: Квартет, 1994. – 320 с.
69. Ольянская, Р.П. Методы исследования газового обмена человека и животных / Р.П. Ольянская, Л.А. Исаакян. – М.: Медгиз, 1959. – 180 с.
70. Оленин, С.С. Неорганическая химия: Учеб. пособие для студентов вузов / С.С. Оленин, Г.Н. Фадеев. – М.: Высшая школа, 1979. – С. 277.
71. Организация медико-санитарного обеспечения при террористических актах с использованием опасных химических и отравляющих веществ. Методические рекомендации. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 28.12.2001 г. №2510/13132-01-34. – 2001.
72. Орлов, А.И. О применении статистических методов в медико-биологических исследованиях / А.И. Орлов // Журнал «Вестник Академии медицинских наук СССР». – 1987. – №2. – С.88-94.
73. Панаитеску, Г. Современная медикаментозная патология / Г. Панаитеску, Э. Попеску. – М.: Медицина, 1976. – 446 с.
74. Первая помощь гражданам, пострадавшим в результате чрезвычайных ситуаций и иных угрожающих жизни случаях. Учебно-методическое пособие. – М.; МОНИКИ, 2011. – С. 68.
75. Петров, А.Н. Состояние производства и разработка отечественных антидотов. Антидотная терапия: состояние и перспективы / А.Н. Петров, С.П. Нечипоренко, И.Н. Сомин. – Биомедицинский журнал www.medline.ru. –

2004. – Т. 5. – ст. 93 (стр. 264). – С. 5-13. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/pdf/tom5/005-013.pdf>.

76. Петров, И.Р. Роль центральной нервной системы, аденогипофиза и коры надпочечников при кислородной недостаточности / И.Р. Петров. – Л.: Медицина, 1967. – 211 с.

77. Плужников, Н.Н. Методические указания по экспериментальному изучению эффективности и безопасности фармакологических средств и их комбинаций, обладающих свойствами антидотов (новая редакция) / Н.Н. Плужников, С.В. Чепур, С.П. Нечипоренко, А.Н. Петров, Е.А. Шибанов, В.Н. Быков, О.Л. Верстакова, Р.Д. Сюбаев // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2007. – № 1. – С.65-76.

78. Подлесный, А.М. Отравление хлором / А.М. Подлесный, В.Н. Аникеенко, Г.Н. Беспалюк, В.В. Кирьянов // Медицинская газета. – 2004. – №98. – Режим доступа: http://www.rusmedserv.com/medgazeta/2004g/98/article_3179.html.

79. Покровский, А.А. Биохимические методы исследования в клинике / А.А. Покровский. – Медгиз, 1969. – С.143-149.

80. Постановление Правительства Российской Федерации от 30.12.2003 г. №794. О единой государственной системе предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. – 2003.

81. Постановление Правительства Российской Федерации от 21.05.2007 г. №304. О классификации чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера. – 2007.

82. Постановление Правительства Российской Федерации от 27.10.2008 г. №791. О федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2013 годы)». – 2008.

83. Приказ №708н от 23.08.2010 г. Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. Об утверждении правил лабораторной практики. – М., 2010. Зарегистрирован в Минюсте РФ 13 октября 2010 г. Регистрационный №18713.

84. Приказ Федерального медико-биологического агентства от 21.10.2008 г. №384. О клинко-токсикологических бригадах ФМБА России. – 2008.
85. Приказ Федерального управления «Медбиоэкстрем» от 03.11.2004 г. №1413. О создании единой системы медицинского мониторинга при хранении, перевозке и уничтожении химического оружия. – 2004.
86. Прозоровский, В.Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентраций биологически активных веществ / В.Б. Прозоровский. – Байкальск: Институт экологической токсикологии, 1994. – 46 с.
87. Прозоровский, В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркологию. – 2007. – Т. 7. – №3-4. – С. 2090-2120.
88. Прохоров, И.И. Военная и экстремальная медицина. Пособие для студентов медико-диагностического факультета. Часть II. / И.И. Прохоров, В.А. Новоселецкий, В.М. Ивашин. – Гродно: ГрГМУ, 2011.
89. Прохоров, М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохорова. – Л.: ЛГУ, 1982. – С.183-186.
90. Путов, Н.В. Руководство по пульмонологии / Под ред. Н.В. Путова и Г.Б. Федосеева. – Л., 1978. – 367 с.
91. Романов, В.В. О деятельности Федерального медико-биологического агентства по охране здоровья персонала и населения при уничтожении химического оружия. Тезисы докладов пятой научно-практической конференции «Научно-технические аспекты обеспечения безопасности при уничтожении, хранении и транспортировке химического оружия» / В.В. Романов, А.В. Леженин, О.М. Зивенко. – М., 2010. – С. 11-15.
92. Саноцкий, И.В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ / Под ред. И.В. Саноцкого. – М.: Медицина, 1970. – 343 с.
93. Саноцкий, И.В. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны (№2163-80) / И.В. Саноцкий, И.П. Уланова, К.К. Сидоров и др. – М., 1980. – 20 с.

94. Саноцкий, И.В. Методические указания по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия веществ в воздухе рабочей зоны (№4000-85) / И.В. Саноцкий, И.П. Уланова, К.К. Сидоров и др. – М., 1985. – 35 с.
95. Сидоров, К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. – М.: Медицина, 1973. – Вып.13. – С. 47-51.
96. Справочник лекарственных средств Vidal. Беротек® Н [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.vidal.ru/drugs/berotec_n__1589.
97. Справочник лекарственных средств Vidal. Преднизолон Никомед [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.vidal.ru/drugs/prednisolon_nycomed__688.
98. Справочник лекарственных средств Vidal. Сальбутамол [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.vidal.ru/drugs/salbutamol__5881.
99. Справочник лекарственных средств Vidal. Эуфиллин [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.vidal.ru/drugs/euphylline__30444.
100. Стальная, И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 62-64.
101. Федеральный закон от 22.07.1993 г. №5487-1. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан (ред. от 07.12.2011 г.). – 1993.
102. Федеральный закон от 21.12.1994 г. №68-ФЗ. О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера (ред. от 21.07.2014 г.). – 1994.
103. Федеральный закон от 21.07.1997 г. №116-ФЗ. О промышленной безопасности опасных производственных объектов (ред. от 02.07.2013 г.). – 1997.
104. Федеральный закон от 30.03.1999 г. №52-ФЗ. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения (ред. от 23.06.2014 г.). – 1999.
105. Федеральный закон от 12.04.2010 г. №61-ФЗ. Об обращении лекарственных средств (ред. от 12.03.2014 г.). – 2010.

106. Федеральный закон от 21.11.2011 г. №323-ФЗ. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации (ред. от 21.07.2014 г.). – 2011.
107. Фосген и дифосген. Информационный сервер Medkurs [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.medkurs.ru/sickness_catalog/chemical/section1955/9825.html.
108. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ – 2-е изд. / Под. ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
109. Хаты, З.И. Рекомендации по организации оказания медицинской помощи населению при возникновении очагов химического поражения СДЯВ / Под ред. З.И. Хаты. – М.: Изд-во Минздрава РСФСР, 1990. – 176 с.
110. Чучалин, А.Г. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни лёгких: пер. с англ. / А.Г. Чучалин. – М.: Издательский дом «Атмосфера», 2007. – 96 с.
111. Чучалин, А.Г. Клинические рекомендации. Хроническая обструктивная болезнь лёгких / Под ред. А.Г. Чучалина. – М., 2003. – 225 с.
112. Aerosol for treating poisoning by nitrogen oxide and its use and preparation method. MILITARY MEDICAL INST LOGISTIC [CN]. Патент: Китайская Народная Республика №CN1422620 от 2003-06-11.
113. Barnes, P.J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // *Pharmacol. Rev.* – 2004. – Vol. 56, №4. – P. 515-548.
114. Bertelli, J.A. The rat brachial plexus and its terminal branches: an experimental model for the study of peripheral nerve regeneration / J.A. Bertelli, M. Taleb, A. Saadi et al. // *Microsurgery.* – 1995. – №16(2). – P. 77-85.
115. Delivery of a combination therapy for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. RICHIE S PHARMACY AND MEDICAL [US]. Патент США №US2007293460 от 2007-12-20.
116. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes // *Official Journal of the European Union.* – 2010. – L. 276. – P. 33-79.

117. Gan, W.Q. The association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis / W.Q. Gan, S.F. Man, A. Senthilselvan, D.D. Sin // *Thorax*. – 2004. – Vol. 5. – P. 574-580.

118. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: Updated 2014. – Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc., 2014. – 102 p.

119. Gosselin, R.E. *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. 4th Edition* / Robert E. Gosselin, Roger P. Smith and Harold C. Hodge et al. – Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1976. – 332 p.

120. Gosselin, R.E. *Clinical Toxicology of Commercial Products. 5th Edition* / Robert E. Gosselin, Roger P. Smith and Harold C. Hodge, with assistance of Jeannette E. Braddock. – Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1984. – 2012 p.

121. Hodge, H.C. Tabulation of toxicity classes / H.C. Hodge, J.H. Sterner. – *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, 1949. – P. 93-96.

122. MacNee, W. Oxidants/antioxidants and COPD / W. MacNee // *Chest*. – 2000. – Vol. 117, №2. – P. 303-317.

123. Novel combination of anticholinergic and beta mimetics for the treatment of respiratory diseases. MEDA PHARMA GMBH & CO KG. Патент: Новая Зеландия №NZ 548302 от 2010-04-30.

124. Novel long-acting medicament combinations comprising an anticholinergic agent and a dollar G(B)2-adrenoreceptor antagonist for the treatment of respiratory tract diseases. Патент: Япония №JP2007500194 от 2007-01-11.

125. Novikov, N.I. Adult respiratory distress syndrom — the necessity of differential approach to prophylaxis / N.I. Novikov, T.N. Preobrazjenskaya // *Curr. Toxicol.* – 1993. – Vol.1, №1. – P. 1-6.

126. Oser, B.L. The rat as a model for human toxicological evaluation // *J. Toxicol. Environ. Health*. – 1981. – Vol. 8, №4. – P. 521-542.

127. Student. The probable error of a mean. // *Biometrika*. – 1908. – №6 (1). – P. 1-25.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Проект инструкции по медицинскому применению препарата «Сальбуфен»

**Проект инструкции по медицинскому применению
препарата «Сальбуфен»**

Русское название

Сальбуфен.

Латинское название

Salbufen.

Лекарственная форма

Спрей дозированный.

Нозологическая классификация (МКБ-10)

J20.9 Острый бронхит неуточнённый

J39.9 Болезнь верхних дыхательных путей неуточнённая

J40 Бронхит, не уточнённый как острый или хронический

J42 Хронический бронхит неуточнённый

J43 Эмфизема

J44 Другая хроническая обструктивная лёгочная болезнь

J44.9 Хроническая обструктивная лёгочная болезнь неуточнённая

J68 Респираторные состояния, вызванные вдыханием химических веществ, газов, дымов и паров

J69 Пневмонит, вызванный твердыми веществами и жидкостями

J81 Лёгочный отёк

J84 Другие интерстициальные лёгочные болезни

J98.8.0* Бронхоспазм

Состав на один флакон

Наименование компонента	Количество
<i>Активные вещества:</i>	
Педифена гидрохлорид (в пересчете на основание) (ФСП 42-9208-08)	25,0 мг
Сальбутамол (ФСП 42-0272-6062-04 или другой, зарегистрированный в РФ, аналогичного качества)	10,0 мг

<i>Вспомогательные вещества:</i>	
Натрия хлорид (ФСП 42-4119-08 или другой, зарегистрированный в РФ, аналогичного качества)	90,0 мг
Цетилолеат (ТУ 64-19-138-92)	2,0 мг
Вода для инъекций (ФС 42-2620-97 или другая, зарегистрированная в РФ, аналогичного качества)	до 10 мл

Описание

Содержимое пластикового флакона с клапаном дозирующего действия — бесцветная или светло-жёлтая прозрачная суспензия, образующая пятно белого цвета при распылении на предметное стекло.

Клинико-фармакологическая группа

Бронхолитический препарат — бета₂-адреномиметик + Н-холинолитик.

Фармакотерапевтическая группа

Бета₂-адреномиметик селективный + Н-холинолитик селективный.

Фармакологическое действие

«Сальбуфен» — новый комплексный препарат, сочетающий в себе бронхолитические, спазмолитические, местноанестезирующие и антиоксидантные свойства.

Сальбутамол

Бета-адреномиметик с преимущественным влиянием на β₂-адренорецепторы (локализующиеся, в частности, в бронхах и кровеносных сосудах). Предупреждает и купирует бронхоспазм; снижает сопротивление в дыхательных путях, увеличивает жизненную ёмкость лёгких. Предотвращает выделение гистамина, медленно реагирующей субстанции из тучных клеток и факторов хемотаксиса нейтрофилов. По сравнению с другими препаратами этой группы оказывает менее выраженное положительное хроно- и инотропное влияние на

миокард. Вызывает расширение коронарных артерий, практически не снижает АД.

Высокоселективно стимулирует β_2 -адренорецепторы, активирует внутриклеточную аденилатциклазу. Бронхолитический эффект обусловлен расслаблением гладкой мускулатуры бронхов. Не разрушается лёгочной катехол-О-метилтрансферазой и поэтому действует длительно. При ингаляции 10-20% достигает мелких бронхов и постепенно всасывается, часть дозы после проглатывания абсорбируется из ЖКТ. Максимальная быстрота действия (снятие бронхоспазма) достигается при ингаляционном пути введения. Тормозит выброс медиаторов воспаления из тучных клеток и базофилов, в частности анти-IgE-индуцированный выброс гистамина, устраняет антигензависимое подавление мукоцилиарного транспорта и выделение фактора хемотаксиса нейтрофилов. Предупреждает развитие индуцированного аллергеном бронхоспазма. Может вызывать десенситизацию и редукцию числа бета-адренорецепторов, в т.ч. на лимфоцитах. Обладает рядом метаболических эффектов — снижает содержание калия в плазме, влияет на гликогенолиз и выделение инсулина, оказывает гипергликемический (особенно у пациентов с бронхиальной астмой) и липолитический эффект, увеличивает риск развития ацидоза.

Педифен

Педифен является селективным Н-холинолитиком с антиоксидантными свойствами. В опытах *in vitro* было показано, что педифен по антиоксидантной активности примерно в 10 раз превосходит аскорбиновую кислоту, уступая по активности токоферолу. Введение педифена «интактным» животным сопровождается снижением свободно-радикального окисления тканей и повышением их антиокислительной активности. Предупреждает активацию перекисного окисления липидов. У педифена обнаружены и мембраностабилизирующие свойства, которые, возможно, также связаны с его антиокислительной активностью.

Центральный Н-холинолитик педифен снижает антителопродукцию.

Обладает стимулирующим воздействием на центральную нервную систему, выраженной спазмолитической активностью, превышая папаверин в 6,5 раз по данному показателю.

Обладает выраженным местноанестезирующим действием. При изучении терминальной анестезии установлено, что по активности он не уступает дикаину, а при проводниковой превосходит новокаин.

Фармакокинетика

Сальбутамол

При применении спрея наблюдается быстрое всасывание сальбутамола в кровь; однако его концентрации в плазме крови при применении в рекомендуемых дозах очень низкие или не достигают предела обнаружения.

После приема внутрь сальбутамол хорошо всасывается из ЖКТ. Связывание с белками плазмы составляет 10%. Метаболизируется при «первом прохождении» через печень и, возможно, в стенке кишечника; основным метаболит — неактивный сульфатный конъюгат. Сальбутамол не метаболизируется в лёгких, таким образом его конечный метаболизм и выведение после ингаляции зависит от способа применения, который определяет соотношение между вдыхаемым и ненамеренно проглоченным сальбутамолом.

$T_{1/2}$ из плазмы крови составляет 2-7 часов. Сальбутамол быстро выводится с мочой в виде метаболитов и неизменённого вещества; в небольших количествах выводится с калом.

Педифен

Максимум концентрации при ингаляционном применении C_{max} достигается через 0,6 часа и составляет порядка 7,7 мкг/мл.

Период полувыведения $T_{1/2}$ составляет порядка 1,4 часа.

Общее среднее время присутствия педифена в организме — показатель MRT составляет порядка 4,9 часа.

Величина кажущегося стационарного объёма распределения — показатель V_{ss} — составляет порядка 300 мл/кг.

Свидетельств о накоплении препарата в организме и возможности кумуляции не выявлено.

Показания

В качестве лечебного и профилактического средства само- и взаимопомощи на основных этапах медицинской эвакуации поражённых пульмонотоксикантами и веществами раздражающего типа действия.

В качестве лечебно-профилактического средства при длительном лечении хронических неспецифических заболеваний лёгких.

Предупреждение и купирование бронхоспазма при всех формах бронхиальной астмы. Обратимая обструкция дыхательных путей при хроническом бронхите и эмфиземе лёгких, бронхообструктивный синдром.

Режим дозирования

При ингаляционном введении доза и частота применения зависят от показаний и клинической ситуации. Терапевтическая доза для человека (10 вдохов) — 0,05 мг/кг.

Побочное действие

Со стороны сердечно-сосудистой системы: преходящее расширение периферических сосудов, умеренная тахикардия.

Со стороны ЦНС: головная боль, головокружение, тошнота, рвота.

Со стороны обмена веществ: гипокалиемия.

Аллергические реакции: в единичных случаях — ангионевротический отёк, аллергические реакции в виде кожной сыпи, крапивница, артериальная гипотензия, коллапс.

Прочие: тремор кистей рук, внутренняя дрожь, напряжённость; редко — парадоксальный бронхоспазм, мышечные судороги.

Противопоказания к применению

Угроза выкидыша в I и II триместрах беременности, преждевременная отслойка плаценты, кровотечение или токсикоз в III триместре беременности; детский возраст до 2 лет; повышенная чувствительность к компонентам препарата.

Применение при беременности и кормлении грудью

«Сальбуфен» противопоказан при угрозе выкидыша в I и II триместрах беременности, преждевременной отслойке плаценты, кровотечении или токсикозе в III триместре беременности.

В случае необходимости применения препарата «Сальбуфен» при беременности следует соотнести ожидаемую пользу лечения для матери и потенциальный риск для плода. В настоящее время недостаточно данных о безопасности применения препарата «Сальбуфен» на ранних сроках беременности. «Сальбуфен» выделяется с грудным молоком, поэтому при необходимости применения в период лактации следует также оценить ожидаемую пользу лечения для матери и возможный риск для ребенка.

Применение у детей

Противопоказан в детском возрасте до 2 лет.

Особые указания

С осторожностью применяют при тахиаритмиях и других нарушениях сердечного ритма, артериальной гипертензии, миокардите, пороках сердца, аортальном стенозе, сахарном диабете, тиреотоксикозе, глаукоме, острой сердечной недостаточности (при условии тщательного контроля врача).

Увеличение дозы или частоты приема препарата «Сальбуфен» следует проводить под контролем врача. Сокращение интервала возможно только в исключительных случаях и должно быть строго обоснованным.

При применении препарата «Сальбуфен» имеется риск развития гипокалиемии, поэтому в период лечения у пациентов с бронхиальной астмой тяжёлого течения следует контролировать уровень калия в крови. Риск гипокалиемии возрастает при гипоксии.

Лекарственное взаимодействие

При одновременном применении препарата «Сальбуфен» с некардиоселективными бета-адреноблокаторами возможно взаимное подавление терапевтических эффектов; с теофиллином — повышается риск развития тахикардии и аритмии, в частности наджелудочковой экстрасистолии.

При одновременном применении препарата «Сальбуфен» и производных ксантина, ГКС или диуретиков возрастает риск развития гипокалиемии.

Форма выпуска

Спрей дозированный.

По 10 мл в пластиковые флаконы с насосом-дозатором и защитным колпачком. Один флакон вместе с инструкцией по применению в пачку из картона.

Хранение

В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25°C.

Срок годности

2 года.

Производитель

ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Стандарты оказания помощи пораженным аммиаком и хлором

Таблица 1 – Лечебные мероприятия при поражениях аммиаком

Контингент, симптомы поражения	Объём и вид лечебных мероприятий	Контингент на этапах медицинской эвакуации	
		догоспитальном	госпитальном
1	2	3	4
Все лица, поступившие из очага с симптомами поражения	Промывание глаз, носа, рта водой или квасцами	л, с, т*	
	После промывания глаз водой или квасцами закапывание в глаза вазелинового или оливкового (персикового) масла	л, с, т	
	При болях в глазах — по 2-3 капли 0,5% р-ра дикаина	л, с, т	
	Наложение глазной мази для профилактики инфекции (0,5% синтомициновая, 10% сульфациловая) или закапывание по 2-3 капли 30% р-ра сульфацила натрия, 0,1% р-ра сульфата цинка или 1% р-ра борной кислоты — 2 раза/день	л, с, т	
	Свежий воздух	л, с, т	
	Вдыхание тёплых водяных паров, лучше с добавлением уксуса или нескольких кристаллов лимонной кислоты; 10% р-ра ментола в хлороформе	л, с, т	
Поражение кожи	После обмывания чистой водой наложение примочки из 5% р-ра аскорбиновой кислоты или 1% р-ра соляной кислоты	л, с, т	

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Затруднение дыхания	Теофедрин, теофиллин ретард — 0,2 по 1 таблетке 1 раз/день Ингаляции солутана, сальбутамола, беротека Н, сальгима — 2-3 раза/день Тёплые водные или содовые ингаляции	с, т с, т с, т	
Спазм голосовой щели	Тепло на область шеи Атропин 0,1% р-р — 1 мл подкожно (п/к)	с, т с, т	с, т с, т
Кашель	Кодеин — 0,015 по 1 таблетке 3 раза/день Банки, горчичники (чередовать)	с, т с, т	с, т с, т
Бронхоспазм	Эуфиллин 2,4% р-р — 10 мл внутривенно (в/в) (медленно) Кальция хлорид 10% р-р — 5-10 мл 1-2 раза/день в/в Оксигенотерапия Антибиотикотерапия для профилактики инфекционных осложнений (ампициллин, оксациллина натриевая соль, гентамицин)	с, т с, т	с, т с, т

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Беспокойство и судороги	Феназепам — 0,0005; седуксен или реланиум — 0,005 по 1 таблетке 2-3 раза/день Галоперидол — 0,0015 по 1 таблетке 3 раза/день или 0,5-1,0% р-р — 0,4-1,0 мл внутримышечно (в/м) Дроперидол 0,25% р-р — от 1-2 до 5-10 мл в/м Гамма-оксимасляная кислота (ГОМК) 20% р-р — 5-20 мл в/в (струйно, медленно, под контролем дыхания)	с, т с, т с, т с, т	с, т с, т с, т
Отёк гортани	Трахеостомия Санация трахеобронхиального дерева (эндотрахеальный катетер, электроотсос)		т т
Токсический отёк лёгких	Преднизолон — от 300-400 мг до 2000-3000 мг в/в Стимуляция диуреза с помощью маннитола (1-2 г на 1 кг массы тела больного) в/в ИВЛ с положительным давлением в конце выдоха — 20-30 мм вод. ст. Гепарин — 5000 ЕД 4 раза/день в/м Оксигенотерапия с пеногасителями		т т т т

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Наиболее тяжёлые случаи поражения	Ультрафильтрация крови с помощью аппарата «Искусственная почка» Инфузионная терапия с коррекцией кислотно-основного состояния (КОС) крови Оксигенотерапия с пеногасителями		Т Т Т
Симптомы сердечно-сосудистой недостаточности и поражения лёгких	Мезатон 1% р-р — 1 мл в/м Допамин — 5 мл с 200 мл физиологического р-ра в/в (капельно) Норадреналина гидротартрат — по 1-2 мл с 500 мл 5% р-ра глюкозы в/в (капельно, под контролем АД) Кордиамин — 2 мл в/м, п/к Кофеин-бензоат натрия 10% р-р — 1 мл п/к Сульфокамфокаин 10% р-р — 2 мл в/м, п/к Эфедрин — 5 мл в/м Строфантин 0,25% р-р — 0,5 мл с 20 мл 5% р-ра глюкозы или физиологическим р-ром в/в Панангин — 10 мл в амп.; 1-2 амп. с 50-100 мл 5% р-ра глюкозы в/в (медленно) Лазикс – 40 мг и более	с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т	с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
	Оксигенотерапия ИВЛ с положительным давлением в конце выдоха — 20-30 мм вод. ст. Гепарин — 5000 ЕД 4 раза/день в/м Трентал — 1 мл 1 раз/день в/в Нитросорбид — 0,02 по 1 таблетке 3 раза/день Коринфар — 0,02 по 1 таблетке 2 раза/день Витамины: В ₁ 5% р-р, В ₆ 5% р-р, С 5% р-р, РР 1% р-р — по 1 мл в/м		с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т
Примечание – * – Здесь и далее — л, с, т — поражения соответственно лёгкой, средней и тяжёлой степени			

Таблица 2 – Лечебные мероприятия при поражениях хлором

Контингент, симптомы поражения	Объём и вид лечебных мероприятий	Контингент на этапах медицинской эвакуации	
		догоспитальном	госпитальном
1	2	3	4
Все лица, поступившие из очага с симптомами поражения	Промывание глаз, носа, рта 2% р-ром гидрокарбоната натрия	л, с, т*	
	После промывания глаз водой или 2% р-ром гидрокарбоната натрия, закапывание в глаза вазелинового или оливкового (персикового) масла	л, с, т	
	При болях в глазах — по 2-3 капли 0,5% р-ра дикаина	л, с, т	
	Наложение глазной мази для профилактики инфекции (0,5% синтомициновая, 10% сульфациловая) или закапывание по 2-3 капли 30% р-ра сульфацила натрия, 0,1% р-ра сульфата цинка или 1% р-ра борной кислоты — 2 раза/день	л, с, т	
	Покой, согревание	л, с, т	
	Питье тёплого молока с боржомом или содой	л, с, т	
	Свежий воздух	л, с, т	
	Вдыхание распылённого 1-2% р-ра гипосульфита натрия («антихлор») в течение 1-2 суток; 2% р-ра гидрокарбоната натрия 2-3 раза/день в течение 10-15 минут или 10% р-ра ментола в хлороформе	л, с, т	

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
Затруднение дыхания	Теофедрин, теофиллин ретард — 0,2 по 1 таблетке 1 раз/день Ингаляции солутана, сальбутамола, беротека Н и сальгима — 2-3 раза/день Тёплые водные или содовые ингаляции	л, с, т л, с, т л, с, т	
Спазм голосовой щели	Тепло на область шеи Атропин 0,1% р-р — 1 мл п/к	с, т с т	с, т с, т
Кашель	Кодеин — 0,015 по 1 таблетке 3 раза/день Банки, горчичники (чередовать)	с, т с, т	с, т с, т
Бронхоспазм	Кальция хлорид 10% р-р — 5-10 мл 1-2 раза/день в/в Оксигенотерапия Антибиотикотерапия для профилактики инфекционных осложнений (ампициллин, оксациллина натриевая соль, гентамицин и другие антибиотики широкого спектра действия)	с, т	с, т с, т с, т

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
Стойкий бронхоспазм	При отсутствии эффекта предыдущей консервативной терапии: - атропин 0,1% р-р — 1 мл в/в - преднизолон — 30-60 мг в/в - алупент 0,5% р-р — 1 мл в/м - трахеостомия	Т Т Т	Т Т Т С, Т
Отёк гортани	Трахеостомия Санация трахеобронхиального дерева (эндотрахеальный катетер, электроотсос)		Т Т
Беспокойство и судороги	Феназепам — 0,0005; седуксен или реланиум — 0,005 по 1 таблетке 2-3 раза/день Галоперидол — 0,0015 по 1 таблетке 3 раза/день или 0,5-1,0% р-р — 0,4-1,0 мл в/м Дроперидол 0,25% р-р — от 1-2 до 5-10 мл в/м ГОМК 20% р-р — 5-20 мл в/в (струйно, медленно, под контролем дыхания)	С, Т С, Т	С, Т С, Т С, Т С, Т

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
Токсический отёк лёгких	<p>Преднизолон — от 300-400 мг до 2000-3000 мг в/в</p> <p>Стимуляция диуреза с помощью маннитола (1-2 г на 1 кг массы тела) в/в или мочевины — 30 г с 200 мл 10% р-ра глюкозы в/в (капельно)</p> <p>Лазикс — 40 мг и более</p> <p>ИВЛ с положительным давлением в конце выдоха — 20-30 мм вод. ст.</p> <p>Гепарин — 5000 ЕД 4 раза/день в/м</p> <p>Оксигенотерапия с пеногасителями</p>		<p>Г</p> <p>Г</p> <p>Г</p> <p>Г</p> <p>Г</p> <p>Г</p>
Наиболее тяжёлые случаи поражения	Ультрафильтрация крови с помощью аппарата «Искусственная почка»		Г
Симптомы сердечно- сосудистой недостаточности и поражения лёгких	<p>Мезатон 1% р-р — 1 мл в/м</p> <p>Допамин — 5 мл с 200 мл физиологического р-ра в/в (капельно)</p> <p>Норадреналина гидротартрат — по 1-2 мл с 500 мл 5% р-ра глюкозы в/в (капельно, под контролем АД)</p> <p>Кордиамин — 2 мл в/м, п/к</p> <p>Кофеин-бензоат натрия 10% р-р — 1 мл п/к</p> <p>Сульфокамфокаин 10% р-р — 2 мл в/м, п/к</p>	<p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p>	<p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p> <p>с, Г</p>

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
	<p>Эфедрин — 5 мл в/м</p> <p>Строфантин 0,25% р-р — 0,5 мл с 20 мл 5% р-ра глюкозы или физиологическим р-ром в/в</p> <p>Панангин — 10 мл в амп.; 1-2 амп. с 50-100 мл 5% р-ра глюкозы в/в (медленно)</p> <p>Лазикс — 40 мг и более</p> <p>Оксигенотерапия</p> <p>ИВЛ с положительным давлением в конце выдоха — 20-30 мм вод. ст.</p> <p>Гепарин — 5000 ЕД 4 раза/день в/м</p> <p>Трентал — 1 мл 1 раз/день в/в</p> <p>Нитросорбид — 0,02 по 1 таблетке 3 раза/день</p> <p>Коринфар — 0,02 по 1 таблетке 2 раза/день</p> <p>Витамины: В₁ 5% р-р, В₆ 5% р-р, С 5% р-р, РР 1% р-р — по 1 мл в/м</p>	с, т	с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т с, т
Примечание – * – Здесь и далее — л, с, т — поражения соответственно лёгкой, средней и тяжёлой степени			