

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Санкт–Петербург – 2016

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России)

Научные руководители: **Бонитенко Евгений Юрьевич**
доктор медицинских наук
Кашуро Вадим Анатольевич
доктор медицинских наук

Официальные оппоненты: **Козяков Владимир Павлович**
доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства
Звартау Эдвин Эдуардович
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор Института фармакологии имени А.В. Валъдмана

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится «27» сентября 2016 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 208.030.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»
<http://www.toxicology.ru/>

Автореферат разослан «_____» _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор



Луковникова
Любовь Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 масштабов 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 (метилизоцианат).

Помимо явления раздражения острые поражения пульмонотоксикантами 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 пульмонотоксикантов 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 настоящее время для быстрого купирования вызванного пульмонотоксикантами бронхообтурационного синдрома и токсического отёка лёгких комплексного препарата в ингаляционной форме нет. Поэтому существует 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.

Цели и задачи 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:

1. разработать экспериментальные модели острых ингаляционных поражений аммиаком, хлором, фосгеном и модель хронических неспеци-

- фических заболеваний лёгких (ХНЗЛ) для изучения эффективности лекарственных средств;
2. 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;
 3. оценить эффективность сочетанного применения наиболее активных лекарственных средств для терапии поражений пульмонотоксикантами на разработанных моделях ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном;
 4. 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 его ингаляционном 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.

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 сальбутамола.

3. Препарат «Сальбуфен», представляющий собой дозированный спрей, состоящий из сальбутамола 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 бронхообтурации 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).

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. 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 «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 «Дыхание».

Публикации

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, имеющих 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).

Объём и структура 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).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава диссертации посвящена обзору литературы, в котором рассмотрены физико-химические свойства и характеристика основных пульмонотоксикантов (аммиак, хлор, фосген), патогенез и клиническая картина отравлений аммиаком, хлором и фосгеном, патогенез токсического отёка лёгких. Также рассмотрены возможные отдалённые последствия острых отравлений пульмонотоксикантами и вопросы лечения отравлений пульмонотоксикантами.

1. Материалы и методы исследования

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.

В работе использованы разработанные хроноконцентрационные модели для наиболее актуальных сильнодействующих ядовитых веществ: аммиака, хлора и фосгена. Также использована разработанная модель ХНЗЛ, как возможных отдалённых последствий острых отравлений пульмонотоксикантами.

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].

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].

Исследуемые препараты применялись в дозах, рекомендованных для человека и экстраполированных на крыс с коэффициентом 5,9. Каждый препарат вводили через одну минуту после окончания воздействия токсикантом рекомендованным способом: внутримышечно (в/м) или ингаляционно.

Активность исследованных лекарственных средств оценивали по выживаемости и состоянию показателей эффективности лечения (потребление кислорода, весовой коэффициент лёгких, активность маркеров цитолиза, показатели токсемии).

В качестве показателей цитолиза клеток лёгких определяли активность кислой фосфатазы (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в крови с помощью наборов Био-Ла-Тест чешской фирмы «Лахема».

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 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].

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

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.

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, оцениваемому с помощью силомера «Grip Strength Meter» фирмы «Ugo Basile S.R.L.» (Италия).

Систолическое артериальное давление (АД) определяли неинвазивным методом на измерителе давления крови фирмы «Ugo Basile», Италия, частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли путём подсчёта числа осцилляций на кривой записи АД, электрокардиограмму (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).

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 и параметрического t-критерия Стьюдента. Уровнем достоверности различий считали $p \leq 0,05$ [Гланц С., 1998].

2. Результаты исследований и их обсуждение

2.1. Моделирование отёка лёгких в экспериментах на животных

Моделирование отёка лёгких при динамической заправке животных аммиаком, хлором и фосгеном осуществляли при температуре $+20^\circ\text{C}$, влажности 70%, атмосферном давлении воздуха и потоке через камеру 10 л/мин в гермокамере типа Б.А. Курляндского объёмом 100 л.

Разработанные модели: отёк лёгких, вызванный аммиаком (мышь: 15 мг/л – 1 час; крысы: 20 мг/л – 20 мин), отёк лёгких, вызванный хлором (мышь: 1

мг/л – 30 мин; крысы: 5 мг/л – 15 мин), отёк лёгких, вызванный фосгеном (крысы: 1,5 мг/л – 1 час). Аммиак (25% водный раствор) подавался в камеру с помощью пароаэрозольного дозатора. Хлор получали реакцией кристаллического перманганата калия с 32% соляной кислотой [Оленин С.С., Фадеев Г.Н., 1979]. Фосген получали по способу Эрдмана реакцией дымящейся серной кислоты с четырёххлористым углеродом [Лос К., 1963].

Выбранные концентрации токсикантов и время воздействия приводили к 90% гибели животных. Модели оказались оптимальными 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.

2.2. Моделирование хронических неспецифических заболеваний лёгких

Для запыления животных использовали мелкодисперсную растительную пыль комбикорма. Дозировалась пыль специальным дозатором вибрационного типа, устанавливаемом над отверстием в крышке камеры. Динамическое ингаляционное воздействие пылью осуществляли на протяжении 2 месяцев ежедневно по 4 часа в стандартных камерах производства Казанского СКТБ-МПФ объёмом 100 л. Внутри каждой камеры помещён вентилятор, поддерживающий пылевую атмосферу.

Все животные рандомизированы по полу и массе и пронумерованы:

1 – интактная (n = 10); 2 – контрольная (n = 20) – запыление + сенсibilизация (подкожное введение сывороточного альбумина в дозе 0,1 мг/кг); 3 – опытная (n = 10) – запыление + сенсibilизация + «Сальбуфен» в дозе 25 мг/кг.

2.3. Отбор препаратов

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 холинолитики (педифен).

Таблица 1 – 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»

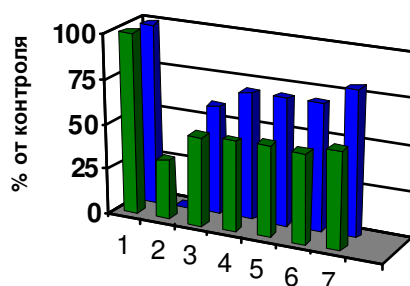
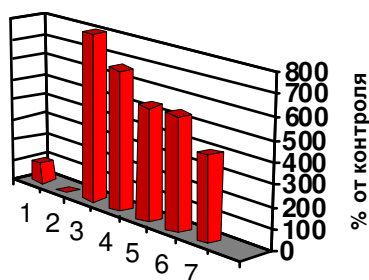
Продолжение таблицы 1

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

2.4. Оценка эффективности выбранных лекарственных средств при монотерапии

2.4.1. Поражение 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 в течение 20 минут нагнетался аммиачный аэрозоль в концентрации 20 мг/л. Далее контрольные животные извлекались из камеры в садки для исследования и последующего наблюдения, а экспериментальные группы подвергались лечебному воздействию препаратов. После этого экспериментальные животные также помещались в садки для исследования.



■ время гибели 50% животных

■ ВКЛ ■ кол-во погибших животных

1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

1 – контроль; 2 – интактные;
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

Рисунок 1 – Влияние отобранных препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс аммиаком

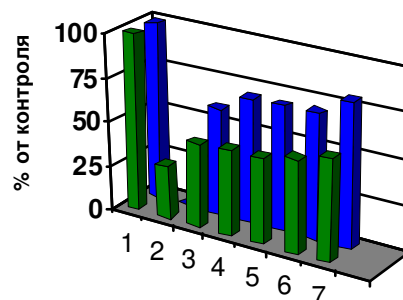
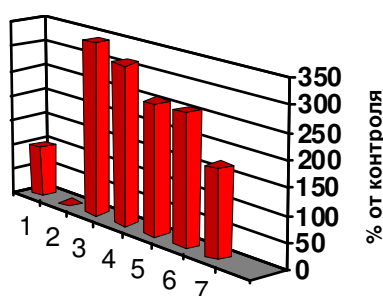
Исследуемые препараты увеличивали выживаемость и продолжительность жизни животных, снижали приблизительно в 2 раза весовой коэффициент лёгких (рисунок 1).

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.

2.4.2. Поражение 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.



■ время гибели 50% животных

■ Вкл ■ кол-во погибших животных

1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

1 – контроль; 2 – интактные;
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

Рисунок 2 – Влияние отобранных препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс хлором

Применение препаратов 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 (рисунок 2). 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.

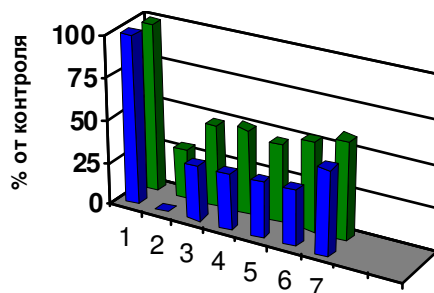
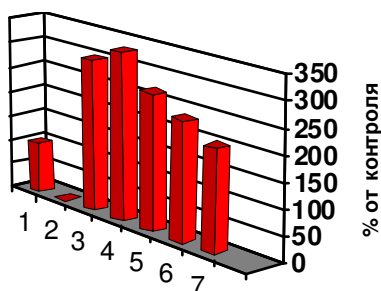
По лечебной эффективности препараты выстроились в следующий ряд:

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.

2.4.3. Поражение 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 подвергались лечебному воздействию.



■ время гибели 50% животных

■ кол-во погибших животных ■ ВКЛ

1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

1 – контроль; 2 – интактные;
3 – эуфиллин; 4 – преднизолон;
5 – сальбутамол; 6 – педифен; 7 – беротек

Рисунок 3 – Влияние отобранных препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при острой тяжёлой ингаляционной затравке крыс фосгеном

Исследуемые препараты увеличивали в несколько раз выживаемость и продолжительность жизни животных, снижали приблизительно в 2 раза весовой коэффициент лёгких (рисунок 3).

По эффективности препараты расположились 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.

2.5. 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.

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).

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 2.

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.

Таблица 2 – Эффективность профилактического применения отобранных препаратов при острой тяжёлой ингаляционной затравке 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)

2.6. Оценка эффективности сочетанного применения препаратов

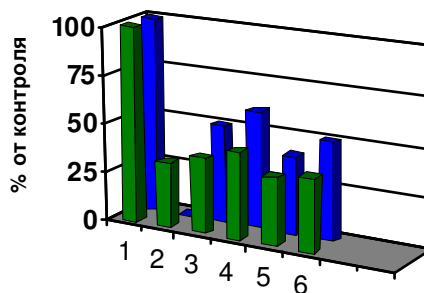
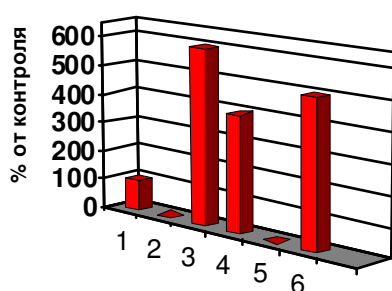
Помимо определения роли ключевых показателей в эффективности применения отобранных лекарственных средств при лечении пульмонотоксикантами в ходе выполнения данной диссертационной работы учтены рекомендации специалистов ФМБА России и изучены механизмы протекторного действия наиболее активных препаратов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

2.6.1. Поражение 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 наи-

более 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.

При назначении препаратов гибель части животных наступала значительно позже, а ключевые показатели эффективности были значительно лучше, чем таковые у контрольных животных (рисунок 4).



■ время гибели 50% животных

■ ВКЛ ■ кол-во погибших животных

1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
 3 – эуфиллин + преднизолон;
 4 – эуфиллин + сальбутамол;
 5 – преднизолон + сальбутамол (гибель 4/10);
 6 – сальбутамол + педифен

1 – контроль; 2 – интактные;
 3 – эуфиллин + преднизолон;
 4 – эуфиллин + сальбутамол;
 5 – преднизолон + сальбутамол;
 6 – сальбутамол + педифен

Рисунок 4 – Влияние сочетанного применения препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при поражении крыс аммиаком

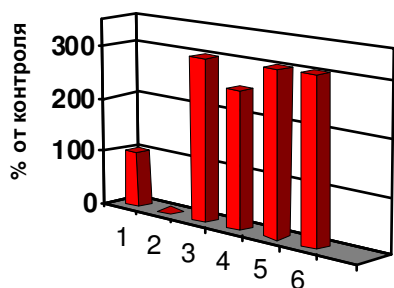
Гистологически в лёгких контрольных животных выявлялся венозный стаз и альвеолярный отёк, геморрагические инфаркты и субплевральные кровоизлияния. Половина контрольных животных погибла в течение суток после затравки.

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.

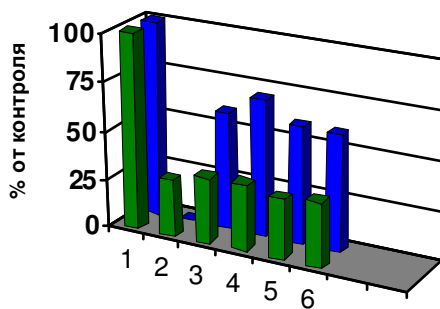
2.6.2. Поражение хлором

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 (рисунок 5).



■ время гибели 50% животных

- 1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
 3 – эуфиллин + преднизолон;
 4 – эуфиллин + сальбутамол;
 5 – преднизолон + сальбутамол;
 6 – сальбутамол + педифен



■ ВКЛ ■ КОЛ-ВО ПОГИБШИХ ЖИВОТНЫХ

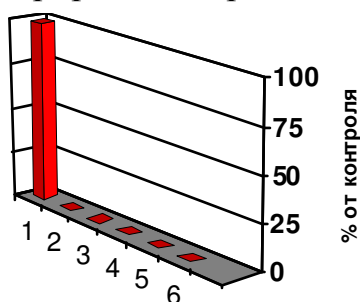
- 1 – контроль; 2 – интактные;
 3 – эуфиллин + преднизолон;
 4 – эуфиллин + сальбутамол;
 5 – преднизолон + сальбутамол;
 6 – сальбутамол + педифен

Рисунок 5 – Влияние сочетанного применения препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при поражении крыс хлором

Применение препаратов благоприятно сказывалось на течении и исходе интоксикации: повышалась выживаемость животных; снизился почти в 2 раза уровень гидратации лёгких.

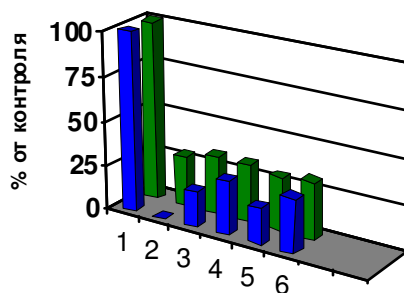
2.6.3. Поражение фосгеном

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 (рисунок 6).



■ время гибели 50% животных

- 1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
 3 – эуфиллин + преднизолон (гибель 2/10);
 4 – эуфиллин + сальбутамол (гибель 3/10);
 5 – преднизолон + сальбутамол (гибель 2/10);
 6 – сальбутамол + педифен (гибель 3/10)



■ КОЛ-ВО ПОГИБШИХ ЖИВОТНЫХ ■ ВКЛ

- 1 – контроль; 2 – интактные;
 3 – эуфиллин + преднизолон;
 4 – эуфиллин + сальбутамол;
 5 – преднизолон + сальбутамол;
 6 – сальбутамол + педифен

Рисунок 6 – Влияние сочетанного применения препаратов на показатели выживаемости и ВКЛ при поражении крыс фосгеном

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.

2.7. Разработка рецептуры препарата «Сальбуфен»

Проведенные нами 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» – комплексный препарат, сочетающий в себе преимущества применения β_2 -адреномиметика короткого действия сальбутамола сульфата и центрального Н-холинолитика педифена. Форма выпуска в виде дозированного спрея (10 мл препарата содержат 25,0 мг педифена гидрохлорида (в пересчете на основание) и 10,0 мг сальбутамола) обуславливает удобство применения, хранения и транспортировки препарата.

2.8. Результаты, полученные при изучении острой токсичности

Результаты исследования острой токсичности позволяют отнести лекарственную форму препарата «Сальбуфен» к малотоксичным лекарственным веществам (ЛД₅₀ в интервале 500-5000 мг/кг). 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).

2.9. Результаты, полученные при изучении субхронической токсичности

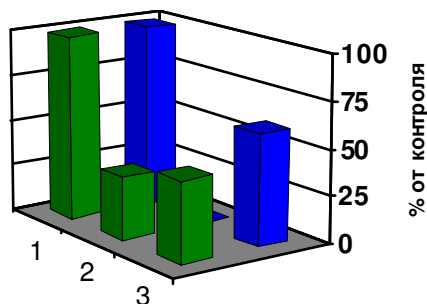
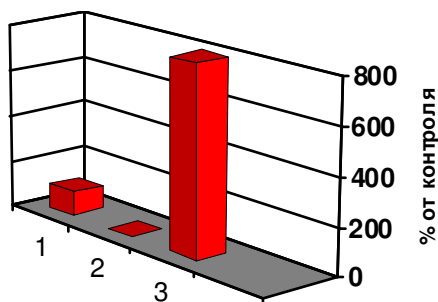
30-дневное ингаляционное введение препарата «Сальбуфен» в трёх дозах («терапевтической» для крыс, субтоксической для крыс и промежуточной) не оказывает токсического влияния на сердечно-сосудистую и нервную системы, почки, белковый, жировой, углеводный и электролитный виды обмена веществ организма белых крыс, не вызывает нарушение функции печени и не влияет на свёртывающую систему крови, не вызывает заметных морфологических изменений внутренних органов, в том числе головного мозга, и не оказывает местного раздражающего действия на лёгкие.

В соответствии с классификацией опасности лекарственных препаратов для клинического применения (ИБ > 5) [Гуськова Т.А., 2003] «Сальбуфен» относится к III классу малотоксичных (малоопасных) лекарственных препаратов.

2.10. Изучение лечебной эффективности препарата «Сальбуфен»

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

Установлено, что ингаляционное применение препарата «Сальбуфен» при тяжёлой интоксикации крыс аммиаком повышает выживаемость животных, облегчает течение интоксикации и уменьшает гидратацию лёгочной ткани (рисунок 7).



■ время гибели 50% животных

■ ВКЛ ■ кол-во погибших животных

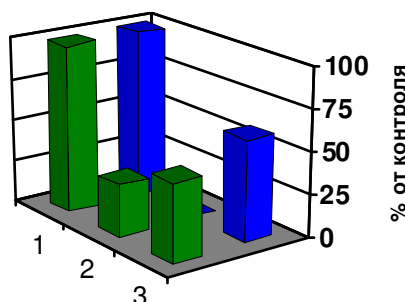
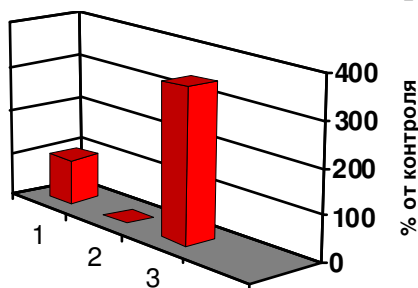
1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
3 – Сальбуфен

1 – контроль; 2 – интактные;
3 – Сальбуфен

Рисунок 7 – Эффективность Сальбуфена при острой тяжелой ингаляционной затравке крыс аммиаком

2.10.2. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при тяжелой интоксикации крыс хлором

Применение препарата «Сальбуфен» благоприятно сказывается на течении и исходе интоксикации хлором: на 40% повышается выживаемость животных, увеличивается продолжительность жизни погибающих особей с параллельным снижением почти в 2 раза уровня гидратации лёгких (рисунок 8).



■ время гибели 50% животных

■ ВКЛ ■ кол-во погибших животных

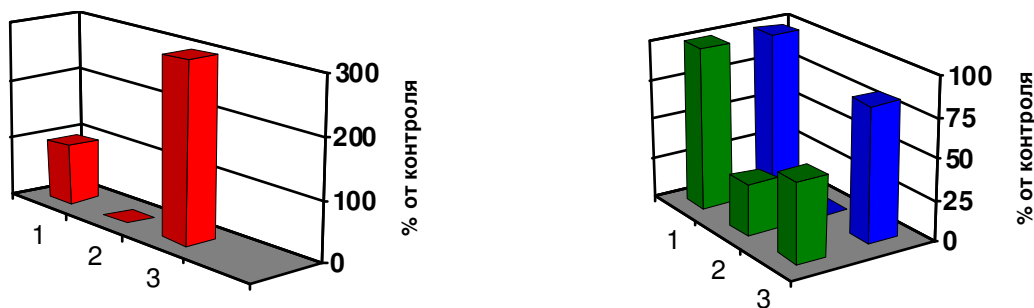
1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет);
3 – Сальбуфен

1 – контроль; 2 – интактные;
3 – Сальбуфен

Рисунок 8 – Эффективность Сальбуфена при острой тяжелой ингаляционной затравке крыс хлором

2.10.3. Оценка лечебной эффективности препарата «Сальбуфен» при токсическом отеке лёгких, вызванном фосгеном

При вскрытии животных после лечения препаратом «Сальбуфен» в лёгких наблюдались менее выраженные изменения: незначительные признаки интерстициального отека и венозного стаза с единичными точечными субплевральными кровоизлияниями при полном отсутствии отека альвеол, инфарктов лёгких, ателектазов, эмфиземы и пневмоний. Эти данные подтверждались величинами ВКЛ, которые в случае лечения почти не отличались от интактной группы (рисунок 9).



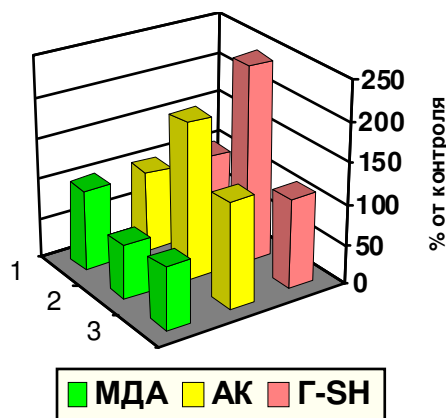
■ время гибели 50% животных

■ вкл ■ кол-во погибших животных

1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет); 3 – Сальбуфен

Рисунок 9 – Эффективность Сальбуфена при острой тяжелой ингаляционной затравке крыс фосгеном

У погибших и выживших животных определяли МДА, АК и Г-SH лёгких (рисунок 10).



■ МДА ■ АК ■ Г-SH

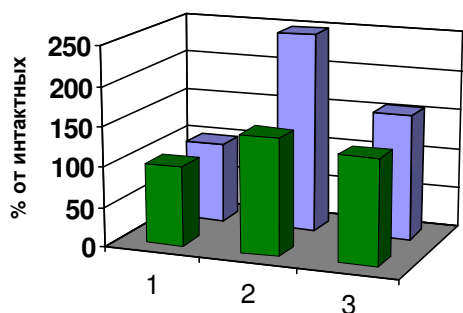
1 – контроль; 2 – интактные (гибели нет); 3 – Сальбуфен

Рисунок 10 – Показатели антиоксидантной системы лёгких крыс и эффективность Сальбуфена при острой тяжелой затравке фосгеном

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

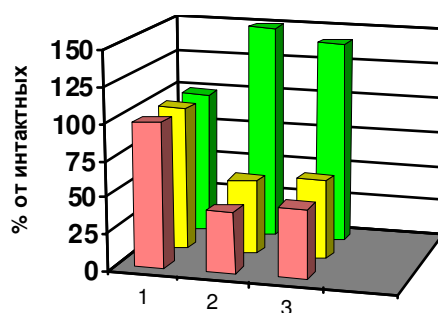
2.10.4. Оценка эффективности препарата «Сальбуфен» при экспериментальных хронических неспецифических заболеваниях лёгких

Животные, получавшие ингаляционную терапию препаратом «Сальбуфен» практически не отличались от интактных особей. Показатели, характеризующие состояние бронхолёгочного аппарата, возвращались к нормальным величинам: ликвидировалась бронхообтурация, повышалась активность сурфактантной системы лёгких (уменьшалось поверхностное натяжение (ПН)), увеличивалась активность антирадикальной системы, а прооксидантные эффекты нивелировались (рисунок 11). Это подтверждалось и гистологическими данными: у животных практически отсутствовали структурные изменения лёгких.



■ **вкл** ■ **поверхностное натяжение**

1 – интактные;
2 – запыление + сенсibilизация;
3 – сальбуфен



■ **Г-SH** ■ **АК** ■ **МДА**

1 – интактные;
2 – запыление + сенсibilизация;
3 – сальбуфен

Рисунок 11 – ВКЛ, поверхностное натяжение и показатели антиоксидантной системы лёгких крыс и эффективность Сальбуфена при моделировании ХНЗЛ

Таким образом, ингаляционное применение рецептуры оказалось эффективным при экспериментальном моделировании ХНЗЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов разработаны и валидированы экспериментальные модели острых ингаляционных поражений хлором, аммиаком и фосгеном, а также модель ХНЗЛ, определены токсодозы пульмоноксикантов 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 пульмоноксикантами 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 адаптационных систем организма: нервной, дыхательной и сердечно-сосудистой.

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

Показано, что применение отобранных препаратов положительно сказывалось на потреблении 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 ре-

зультаты 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 их индивидуальном 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 пульмоноотоксикантов.

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

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, активности лёгочных сурфактантов и улучшения микроциркуляции.

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 пульмоноотоксикантов. 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 при-

менения 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.

Научно-практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы:

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Колбасов, К.С. Разработка экспериментальной модели для оценки эффективности лекарственных средств при хронических неспецифических заболеваниях лёгких / К.С. Колбасов, В.А. Кашуро, М.В. Мелихова // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2014. – Т. 15. – С. 229-237.

2. Колбасов, К.С. К вопросу моделирования ингаляционных поражений веществами раздражающего действия / К.С. Колбасов, Е.Ю. Бонитенко, В.К. Сибиряков // Фундаментальные исследования. – 2015. – №2-4. – С. 723-726.

3. Колбасов, К.С. Использование лекарственных средств, имеющих в аптечной сети, для лечения ингаляционных поражений АХОВ из группы пульмонотоксикантов. Методические рекомендации / К.С. Колбасов, С.П. Нечипоренко, Е.Ю. Бонитенко, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова, М.А. Рожко // Издание официальное. ©Федеральное медико-биологическое агентство, МР ФМБА России 12.51.12 – 2012. – Москва, 2012. – 28 с.

4. Колбасов, К.С. Применение Дельтарана при ингаляционных поражениях фосгеном / К.С. Колбасов, Е.Ю. Бонитенко, М.А. Рожко // Тезисы докладов Российской научной конференции с международным участием «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии», Санкт-Петербург, 19-20 мая 2011 г. – СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2011. – С. 199.

5. Колбасов, К.С. Эффективность нового комплексного аэрозольного препарата Сальбуфен при острых ингаляционных отравлениях крыс хлором / К.С. Колбасов // Сборник трудов Всероссийской научной конференции молодых ученых Медико-биологические аспекты химической безопасности / Под общ. ред. проф. В.Р. Рембовского и проф. А.С. Радиолова. – СПб.: Изд-во ВВМ, 2013. – С. 59-60.

6. Колбасов, К.С. Моделирование хронических профессиональных пылевых заболеваний лёгких в эксперименте / К.С. Колбасов, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова, М.А. Рожко // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний», Сочи, 14-15 октября 2013 г. – Сочи, 2013. – С. 120-121.

7. Колбасов, К.С. Эффективность нового комплексного аэрозольного препарата Сальбуфен при острых ингаляционных отравлениях крыс аммиаком / К.С. Колбасов, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова, М.А. Рожко // IV съезд токсикологов России, 6-8 ноября 2013 г. Москва. Сборник трудов / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М., Изд-во Capital Press, 2013. – С. 258-260.

8. Колбасов, К.С. Хроноконцентрационная экспериментальная модель отравлений окислами азота / К.С. Колбасов, М.Б. Иванов, В.А. Кашуро, С.Е. Колбасов, М.В. Мелихова, М.А. Рожко // Сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний», Сочи, 20-21 октября 2014 г. – Сочи, 2014. – С. 321-322.

9. Колбасов, К.С. Эффективность медикаментозных средств аптечной сети при токсическом поражении фосгеном / К.С. Колбасов, В.А. Баринов, В.А. Кашуро // Обитаемость кораблей. Обеспечение радиационной и токсикологической безопасности: Межотраслевая научно-практическая конференция «Кораблестроение в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы»: ВОКОР-2014: материалы конф., 21-22 окт. 2014 г. / под ред. А.В. Смурова, В.В. Чумакова. – СПб, 2014. – С. 148-149.

10. Колбасов, К.С. Разработка комплексного аэрозольного препарата для лечения поражений дыхательной системы раздражающими веществами. Шифр «Дыхание-12». Отчёт о патентных исследованиях / К.С. Колбасов, М.В. Мелихова, Т.С. Смирнова // ФГБУН ИТ ФМБА России, Санкт-Петербург, 2014. – 33 с. Инв. №497ПИ.

11. Колбасов, К.С. «Сальбуфен» – современное средство лечения поражений сильнодействующими ядовитыми веществами из группы пульмонотоксиантов / К.С. Колбасов, Е.Ю. Бонитенко, В.А. Кашуро // Материалы научно-практической конференции «Безопасность химических предприятий. Медицинские и гигиенические проблемы», Волгоград, 8-9 октября 2015 г. – Волгоград, 2015. – С. 115-119.

12. Колбасов, К.С. «Сальбуфен» – новое средство фармакологической защиты здоровья лиц, работающих во вредных, опасных и особо опасных условиях // К.С. Колбасов, В.А. Кашуро // Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний», Сочи, 15-16 октября 2015 г. – Сочи, 2015. – С. 161-164.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

GLP	–	«Good Laboratory Practice» – «Надлежащая лабораторная практика»
LC ₅₀	–	среднесмертельная токсодоза
Q _{O2}	–	интенсивность потребления кислорода организмом
q _{O2}	–	среднее потребление кислорода за 1 дыхательный цикл
АД	–	артериальное давление
АК	–	аскорбиновая кислота
АХОВ	–	аварийно химически опасные вещества
в/ж	–	внутрижелудочно
в/м	–	внутримышечно
ВКЛ	–	весовой коэффициент лёгких
ВНиСММ	–	вещества низкой и средней молекулярной массы
Г-SH	–	восстановленный глутатион
ЖКТ	–	желудочно-кишечный тракт
ИБ	–	индекс безопасности
КФ	–	кислая фосфатаза
ЛД ₅₀	–	среднесмертельная доза
МДА	–	малоновый диальдегид
ОП	–	олигопептиды

ПН	–	поверхностное натяжение
ПОЛ	–	перекисное окисление липидов
РБК	–	расчётный безопасный курс
СДА	–	спонтанная двигательная активность
СПП	–	суммационно-подпороговый показатель
ХНЗЛ	–	хронические неспецифические заболевания лёгких
ЧДД	–	частота дыхательных движений
ЧС	–	чрезвычайная ситуация
ЧСС	–	частота сердечных сокращений
ЩФ	–	щелочная фосфатаза
ЭКГ	–	электрокардиограмма