

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

ОЧЕРЕТНЮК АННА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 541.49;615.015:615.05;616.24;616-0.01.17.0.01.08

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ КОРЕКЦІЇ  
КОЛОЇДНО-ГІПЕРОСМОЛЯРНИМ РОЗЧИНОМ НАЕС-LX 5%  
ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЛЕГЕНЬ В УМОВАХ  
ОПІКОВОГО ШОКУ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Яковлева Ольга Олександрівна,**  
Вінницький національний медичний університет  
імені М.І. Пирогова МОЗ України,  
завідувач кафедри клінічної фармації  
та клінічної фармакології

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**Міщенко Оксана Яківна**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України (м. Харків),  
виконуючий обов'язки завідувача  
кафедри клінічної фармакології ІПКСФ

доктор медичних наук  
**Крилюк Віталій Омелянович**  
ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної  
медичної допомоги та медицини катастроф  
МОЗ України» (м. Київ),  
завідувач відділом підготовки фахівців  
з питань екстреної медичної допомоги

Захист відбудеться "20" січня 2017 року о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий "16" грудня 2016 року.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
д. фарм. н., професор

Т. С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Проблема опікової хвороби (ОХ), що розвивається в результаті тяжкої опікової травми, у світі і в Україні, зокрема, є однією з важливих у сучасній медицині. За даними ВООЗ, в мирний час питома частка опікової травми складає від 2% до 12% і займає третє місце серед інших видів травм (M. S. Alam et al., 2010; O. Kallinen et al., 2012; K. Osterbur, 2014). Одним з найбільш небезпечних періодів ОХ вважається опіковий шок (ОШ), який є причиною загибелі до 25% постраждалих, характеризується тяжкими системними та органними порушеннями, зокрема в легенях, що у 40% випадків призводить до летальних наслідків (Ф. С. Глумчер, 2014; M. A. Alintas et al., 2014).

Основою патогенетичного лікування «шокового» стану органів-мішеней є адекватна інфузійна терапія (В. І. Нагайчук, 2010; Г. П. Козинець та співавт., 2012; A. M. Modrykamien et al., 2015). Сьогодні перевага надається малооб'ємній інфузійній терапії з використанням гіпертонічних розчинів натрію хлориду різної концентрації та комбінованих гіперосмолярних колоїдно-електролітних розчинів. Останні є одними з найефективніших засобів екстренної терапії різних стадій шоку, оскільки швидко мобілізують ендogenous рідину і збільшують внутрішньосудинний об'єм, виявляють тривалий волемічний ефект, підтримуючи вітальні функції організму. На відміну від гіпертонічних розчинів натрію хлориду, яким поряд з позитивною фармакологічною дією притаманний ряд недоліків, комбіновані колоїдно-гіперосмолярні розчини (КГР) мають ряд переваг: забезпечують комплексну фармакологічну дію: дезінтоксикаційну, залужнювальну, енергетичну, помірну дегідратаційну та характеризуються меншим ризиком виникнення побічних ефектів: набряку легень, гіпокоагуляції, порушення фільтраційної здатності нирок (І. П. Шлапак, 2013; Б. О. Кондрацький та співавт., 2014).

Фармацевтичний ринок України насичений високовартісними інфузійними розчинами закордонного виробництва, тому сьогодні в країні існує дефіцит сучасних вітчизняних поліфункціональних інфузійних розчинів і кровозамінників. Забезпечення спеціалізованих відділень високоефективними, безпечними, доступними за вартістю вітчизняними кровозамінниками з органопротекторними властивостями є актуальним завданням сучасної фармакології (Z. Alharbi et al., 2012; В. Л. Новак та співавт., 2014; О. Н. Коваленко, 2014; M. P. Rowan et al., 2015).

Одним з таких препаратів є розчин НАЕС-LX 5%, який створений у Львівському Інституті патології крові та трансфузійної медицини і зареєстрований в Україні у 2013 році під торговою назвою «Гекотон». Він єдиний препарат у своєму класі – колоїдно-електролітно-гіперосмолярний розчин, створений на основі гідроксиетилкрохмалю (ГЕК) III генерації. Це вигідно відрізняє цей препарат від аналогічних, створених на основі нативних протеїнів, які більш часто спричиняють тяжкі анафілактоїдні реакції та є небезпечними щодо ризику передачі трансмісивних інфекцій (Е. Я. Фісталь, 2010). У результаті доклінічного вивчення препарату встановлена його здатність підтримувати вітальні функції організму щурів та органопротекторний вплив в умовах експериментальної ОХ (Б. О. Кондрацький, 2009; А. І. Семененко, 2010; О. І. Макарова, 2015; І. В. Дзевульська, 2016; О. М. Семененко, 2016). Невідомим є вплив препарату на функціональний

стан легень у період ОШ, що актуалізує дослідження у цьому напрямку.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана в межах НДР Інституту патології крові за темами: «Розробити колоїдні плазмозамінники поліфункціональної дії та розчини для консервування крові і ресуспендування еритроцитів» (№ держреєстрації 0110U002253) та «Обґрунтувати створення та застосування колоїдно-гіперосмолярних плазмозамінників та розчинів для консервування і ресуспендування еритроцитів» (№ держреєстрації 0113U003167); кафедри клінічної фармації і клінічної фармакології та НДЦ ВНМУ імені М. І. Пирогова за темами: «Експериментальне обґрунтування ефективності комплексних інфузійних препаратів на моделі опікової хвороби у тварин» (№ держреєстрації 0110U00 2590) та «Структурні зміни в легенях в умовах ендогенної інтоксикації, що викликана опіком шкіри, та їх корекції вітчизняними інфузійними препаратами лактопротейном з сорбітолом (ЛПС) та НАЕС-LX 5%» (№ держреєстрації 0112U004187), у яких автор є співвиконавцем.

**Мета і задачі дослідження.** Мета – експериментальне обґрунтування доцільності застосування колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX 5% для корекції функціонального стану легень в умовах опікового шоку.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Вивчити вплив КГР НАЕС-LX 5% і препарату порівняння ЛПС на загальнотрофічні та дезінтоксикаційні процеси у щурів без опіку.
2. Дослідити вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на летальність, загальнотрофічні процеси та динаміку показників системної запальної реакції і ендогенної інтоксикації організму щурів з ОШ.
3. Вивчити вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на системний оксидативний, сульфідний та нітрозативний стрес у щурів з ОШ.
4. Оцінити вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на функціональний стан легень щурів без опіку та з ОШ за макрометричними показниками, а також за індикаторами про- і антиоксидантного статусу, фосфоліпідного спектру клітинних мембран, активності обмінних процесів сполучної тканини органу у тварин з ОШ.
5. З'ясувати вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на динаміку показників клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин легень, що характеризують апоптотичні процеси, у щурів без опіку та в умовах ОШ.
6. Визначити вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на структурну організацію тканин легень у щурів без опіку на мікро- та ультраструктурному рівнях.
7. Дослідити вплив КГР НАЕС-LX 5% і ЛПС на структурну організацію тканин легень у щурів з ОШ за патоморфологічними і стереометричними показниками.

*Об'єкт дослідження* – опіковий шок.

*Предмет дослідження* – коригувальний вплив колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX 5% на гомеостаз та функціональні зміни в легенях щурів в умовах опікового шоку.

**Методи дослідження:** фармакологічні, біохімічні, цитофлюорометричні, гістоморфологічні, електронно-мікроскопічні, стереометричні та методи математичної статистики.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше експериментально доведено наявність пульмопротекторної дії у нового вітчизняного КГР НАЕС-LX 5% в умовах ОШ та відсутність його негативного впливу на стан легень у тварин без патології на органному, клітинному та субклітинному рівнях. Встановлено, що розчин НАЕС-LX 5% в умовах ОШ зменшує прояви оксидативного стресу в легенях щурів (знижує вміст МДА на 42,1% та карбонільних груп протеїнів на 37,9% на 7 добу,  $p < 0,05$ ); стримує розвиток дисбалансу про- та антиоксидантних ензимів (знижує активність НАДФН-оксидази на 36,0% та підвищує активність СОД на 41,5%,  $p < 0,05$ ); коригує зміни фосфоліпідного спектру клітинних мембран (підвищує вміст ФХ на 23,4% та зменшує рівень ЛФХ на 19,2%,  $p < 0,05$  і співвідношення ФХ/ЛФХ на 62,1%,  $p < 0,05$ ); гальмує процеси фіброгенезу та ремоделювання сполучної тканини (зменшує вміст вільного оксипроліну в сироватці крові на 24,7% та ТФР- $\beta_1$  на 35,2%,  $p < 0,05$ ).

На клітинному та субклітинному рівнях встановлено, що в умовах ОШ розчин НАЕС-LX 5% сприяє покращенню показників клітинного циклу легень: зменшує блок проліферації (ВР), збільшує синтез ДНК (S-фази) та зменшує кількість клітин з фрагментованою ДНК в інтервалі апоптозу (SUB-G<sub>0</sub>G<sub>1</sub>), що свідчить про виразний антиапоптотичний ефект препарату. Доведено, що в умовах ОШ КГР НАЕС-LX 5% сприяє відновленню ендотелію судин і утриманню рідини в мікроциркуляторному руслі та покращенню морфофункціонального стану аерогематичного бар'єру легень, стимулює активність альвеолярних макрофагів та секреторну функцію альвеолоцитів II типу, продукуючих сурфактант. За величиною цитопротекторного ефекту на клітини легень в умовах ОШ розчин НАЕС-LX 5% зіставляється, а в ряді випадків переважає препарат порівняння (ПП) ЛПС.

Розширено уявлення впливу КГР НАЕС-LX 5% на системні зміни організму щурів в умовах ОШ. Експериментально доведено, що досліджуваний засіб виявляє протизапальну активність (знижує рівень С-реактивного білка на 35,0%,  $p < 0,05$ ), зменшує рівень ендогенної інтоксикації (знижує рівень МСМ на 42,5% та ЛП на 56,6%,  $p < 0,05$ ), попереджає розвиток системного оксидативного (знижує рівень МДА на 37,8%,  $p < 0,05$  та карбонільних груп протеїнів на 30,7%,  $p < 0,05$ ) нітрозативного та сульфідного стресу (знижує рівень нітроген монооксидів на 32,5%,  $p < 0,05$  та гідроген сульфідну на 26,1%,  $p < 0,05$ ) у крові щурів з ОШ, поліпшуючи загальнотрофічні процеси і підвищуючи їх виживаність.

Встановлена нешкідливість засобу НАЕС-LX 5% у тварин без патології та відсутність потенційних алергенних властивостей, які притаманні препарату порівняння ЛПС.

Встановлені протизапальні, антитоксичні, антиоксидантні, мембраностабілізувальні, антифіброгенні, антиапоптотичні, цитопротекторні властивості НАЕС-LX 5% є основою пульмопротекторної дії препарату в умовах ОШ.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дослідження доповнили існуючі теоретичні відомості щодо патологічних змін у легенях в умовах ОШ, характеру репаративних процесів у органах дихання при застосуванні КГР.

Дисертаційна робота є фрагментом доклінічного вивчення розчину НАЕС-LX 5% як лікарського засобу метаболічної дії та фармакологічної корекції токсичних ефектів в умовах ОШ (патент України № 18890, 2015 р). За результатами дослідження запропоновано два інформаційні листи в систему охорони здоров'я (№ 123–2014 та № 124–2014, 2014 р.) щодо доцільності використання методу проточної ДНК-цитометрії для оцінки клітинного циклу та фрагментації ДНК в клітинах легень, як маркерів порушення в умовах ОХ.

Результати проведеного дослідження впроваджено у роботу науково-дослідної лабораторії технології трансфузійних препаратів ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (протокол №10 від 01.12.15 р.); опікового відділення Вінницької обласної клінічної лікарні імені М. І. Пирогова (протокол №4 від 02.11.15 р.); науково-дослідної лабораторії функціональної морфології і генетики розвитку (протокол №12 від 09.12.15 р.) та клініко-діагностичної біохімічної лабораторії ВНМУ імені М. І. Пирогова (протокол №8 від 08.12.15 р.); науково-дослідної лабораторії Вінницького інституту реабілітації інвалідів (протокол №8 від 27.11.15 р.); центральної науково-дослідної лабораторії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол №3 від 06.03.15 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Разом з науковим керівником визначені мета і завдання дослідження, обґрунтовані моделі та методи для виконання експериментальної частини дисертації. Особисто автором проведені: патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написані всі розділи дисертації, сформульовані висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, прийнята участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні статей. Електронно-мікроскопічні та морфологічні дослідження виконані за консультативною допомогою д. біол. н., професора К. С. Волкова (кафедра гістології та цитології ТДМУ імені І. Я. Горбачевського).

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації оприлюднені та обговорені на II, IV, V, VI науково-практичних конференціях молодих вчених ВНМУ з міжнародною участю «Молодь та перспективи сучасної медичної науки» (Вінниця, 2011-2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Стандарти діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб» (Вінниця, 2012); науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012); II міжнародному конгресі з інфузійної терапії «Актуальні проблеми гематології та трансфузійної медицини» (Львів, 2012); 85 міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених КДМУ (Сімферополь, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Проблеми биологии и медицины» (Самарканд, 2013); VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології «Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини» (Вінниця, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми функціональної морфології» (Полтава, 2014).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 23 наукові праці: 11 статей у наукових виданнях, з них 4 у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті – закордонні, 9 тез доповідей у матеріалах з'їздів та конференцій, 2 інформаційні листи та 1 патент України на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи», 4 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел та додатків. Робота викладена на 185 сторінках друкованого тексту, містить 37 рисунків та 25 таблиць. Список літератури містить 226 джерел, з них 119 – кирилицею, 107 – латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Досліджували схему фармакокорекції ОШ з використанням нового КГР НАЕС-LX 5% у порівнянні з референс-препаратом ЛПС виробництва Київського ЗАТ «Біофарма», як аналогом за складом та трансфузійним потенціалом. Розчин НАЕС-LX 5% зареєстрований в Україні в 2013 році під назвою «Гекотон» (Реєстраційне посвідчення № UA/13224/01/01, Інструкція для медичного застосування, затверджені наказом МОЗ України № 771 від 02.09.2013 р.) та впроваджений у виробництво на ТОВ «ЮРІЯ-ФАРМ». Досліджувані розчини використовували в дозі 10 мл/кг маси тіла, що експериментально обґрунтована розробниками НАЕС-LX 5% та ЛПС Я. Б. Кондрацьким (2013) та Б. О. Кондрацьким (2014) і відповідає середньотерапевтичній добовій дозі для людини.

Експериментальні дослідження були виконані на 556 білих щурах самцях масою 160-180 г, отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Дослідження проведені на базі науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку, науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про переатестацію №002/10 від 11.01.2010 р.) ВНМУ імені М. І. Пирогова відповідно до вимог сучасних норм та згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України (О. В. Стефанов, 2001), Національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001). Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комітету з біоетики ВНМУ імені М. І. Пирогова (протокол № 12 від 10.12.2015 р.).

Тварини були катетеризовані і розподілені на 7 груп: I група –інтактні тварини; II, III, IV групи – щури без опіку та V, VI, VII групи – щури з ОШ, яким проводили інфузію відповідно: 0,9% розчину NaCl; ЛПС, НАЕС-LX 5%. Опіковий шок середнього ступеня тяжкості у тварин викликали термічним опіком II<sup>a</sup> ступеня (площею 21-23% поверхні тіла) за методикою I. W. Gunas (1997); Regas (1992); А. А. Тимофієвського (2002). Інфузію розчинів проводили в дозі 10 мл/кг в/в протягом 5 хв через 1 годину після моделювання ОШ, наступні інфузії – 1 раз на добу протягом 7 діб. Гоління тварин, катетеризацію магістральних судин, нанесення опіків та декапітацію тварин здійснювали в умовах прополового наркозу (60 мг/кг в/о). Для оцінки ефективності дослі-

джуваного розчину визначали у сироватці крові біохімічні показники: запального процесу – С-реактивний білок імуноферментним методом (набір «Rat C-Reactive Protein [CRP] ELISA Kit», BD Biosciences, США) та ендотоксикозу – лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) за формулою Я. Кальф-Каліфа (В. В. Меньшиков, 1987) і молекули середньої маси (МСМ) спектрофотометричним методом при довжині хвиль УФ-випромінювання 220 нм (Н. И. Габриелян, В. И. Липатова, 1984); у сироватці крові та легенях показники: окисного пошкодження ліпідів – малоновий діальдегід (МДА) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Ю. В. Владимиров, 1972) та білків – карбонільні групи протеїнів (КГП) за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином (Н. В. Заїчко, 2003); нітрозативного та сульфідного стресу – вміст стабільних метаболітів оксиду азоту нітритів та нітратів у сироватці крові за реакцією з реактивом Гріса (И. М. Коренман, 1975) та гідроген сульфїду за реакцією утворення тіонїну з використанням пара-фенїлендіамїну адаптованим методом (Н. В. Заїчко та співавт., 2010); у гомогенатї легень – дисбаланс про- та антиоксидантних ензимів – активність ферменту НАДФН-оксидази за падінням поглинання НАДФН при 340 нм (Т. Fukui et al., 1997) та супероксиддисмутази (СОД) за інгібуванням окиснення кверцетину (В. А. Костюк, 1990). Складові фосфолїпїдів у клітинах легень фосфатидилхолїн (ФХ) та лізофосфатидилхолїн (ЛФХ) визначали за реакцією з фосфорнованїліновим реактивом (В. В. Меньшикова, 1987) після їх розділення методом тонкошарової хроматографії на силікагелї Л5/40 (Chemapol, Чехія) та ідентифікації – методом свідків (М. Кейтс, 1975). Показники деструкції сполучної тканини та фіброгенезу в легенях – вільний оксипролін – за реакцією з парадиметиламінобензальдегідом (П. Н. Шараев и соавт, 2009), трансформуючий фактор росту  $\beta_1$  (ТФР- $\beta_1$ ) – імуноферментним методом на аналізаторї STAT FAX 303/PLUS (набір «TGF- $\beta_1$ », Biosource, Europe S.A.).

Макрометричні (абсолютна та відносна маса, об'єм, загальний показник макроскопічного стану легень: кольору, поверхні, консистенції, наявності крововиливів) та гістологічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою (О. В. Волкова та співавт., 1971). Стереометричний аналіз тканини легень здійснювали за методикою (Л. П. Горальський, 2011). Ультроструктурні дослідження – за загальноприйнятою методикою (Б. Уикли, 1975). Цитофлюорометричні – за методикою (А. J. Singer, 2008; V. Galani et al., 2010).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням t-критерію Стюдента та непараметричних методів аналізу (U-критерію Мана-Уїтні) за допомогою комп'ютерних програм «STATISTICA 6.1» (Stat Soft Inc, США) та Ms Excel у середовищі Windows-2007 (Microsoft, США).

**Результати та їх обговорення.** На першому етапі дослідження було вивчено вплив КГР НАЕС-LX 5% і ПП ЛПС на загальнотрофічні та дезінтоксикаційні процеси у щурів без опіку. Встановлено, що КГР НАЕС-LX 5% та ПП ЛПС сприяли вірогідному підвищенню ( $p < 0,05$ ) маси тіла тварин в середньому на 14,3% протягом 7 діб порівняно з вихідними даними, що було вірогідно вищим відносно інтактних тварин на 3-7 добу досліду, та вірогідно ( $p < 0,05$ ) не впливали на показник ендогенної інтоксикації ЛІІ. Це свідчить про відсутність



їх негативного впливу на загальнотрофічні та дезінтоксикаційні процеси у тварин без опіку.

Згідно з даними літератури, летальність при ОШ є показником, який віддзеркалює ефективність інтенсивної терапії та свідчить про глибину ураження органів, що відповідають за основні вітальні функції організму (Э. Я. Фисталь, 2009; S. Rex, 2012; I. В. Гунас та свіавт., 2014). Низька ефективність інфузійної терапії щурів з ОШ 0,9% розчином NaCl (контрольна патологія, КП) підтверджена вірогідним ( $p < 0,05$ ) збільшенням летальності: від 5,0% через 1 добу до 11,0% у проміжку від 4 до 7 доби. Лікування щурів КГР НАЕС-LX 5% і референс-препаратом ЛПС суттєво перешкоджало загибелі тварин у перші 7 діб досліджу: зниження летальності відповідно ( $p < 0,05$ ) до 1,7% та 0,8% через 1 добу; до 4,2% та 2,5% у проміжку від 4 до 7 доби.

В умовах ОШ на тлі введення 0,9% розчину NaCl встановлено вірогідне ( $p < 0,05$ ) відставання фізіологічного зростання маси тіла тварин на 3-7 добу, що свідчить про нездатність засобу повною мірою запобігати розвитку деструктивних та токсичних процесів. Під впливом КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС маса тіла тварин на 7 добу практично досягала значень інтактних тварин, була вірогідно вищою ( $p < 0,05$ ) відносно вихідних даних та даних на тлі дії 0,9% розчину NaCl, що свідчить про більший захисний вплив досліджуваних засобів у порівнянні з фізіологічним розчином.

Для оцінки ступеня інтоксикації були визначені ЛШ і рівень МСМ у сироватці крові. У тварин з ОШ на тлі 0,9% розчину NaCl (КП) показник ЛШ на 7 добу вірогідно зростав у 5,37 разу ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з тваринами без опіку, що свідчить про його незначний антитоксичний ефект. На тлі введення НАЕС-LX 5% та ЛПС рівень ЛШ зростав лише у 2,33 ( $p < 0,01$ ) і у 2,41 ( $p < 0,05$ ) разу та був вірогідно нижчим у порівнянні з 0,9% розчином NaCl, що свідчить про більш виразну антитоксичну дію досліджуваних розчинів. У тварин з групи КП відмічалось зростання в крові вмісту МСМ відповідно на 1 добу на 75,6%, на 3 добу – на 159,5%, а на 7 добу – на 128,0% порівняно з інтактними тваринами. Фармакокорекція ОШ розчинами НАЕС-LX 5% та ЛПС в однаковій мірі стримувала розвиток ендотоксикозу з 3 по 7 добу, що супроводжувалось достовірним ( $p < 0,05$ ) зниженням рівня МСМ відповідно на 36,2% та 42,5% на тлі НАЕС-LX 5% та на 32,9% і 38,8% на тлі ЛПС відносно КП.

Опіковий шок супроводжувався розвитком системного запалення, що було підтверджено вірогідним ( $p < 0,05$ ) зростанням вмісту С-реактивного білка у крові щурів на тлі 0,9% розчину NaCl максимально на 3 добу на 104,7%, а на 7 добу на 79,7% у порівнянні з тваринами без опіку. Інфузія розчинів НАЕС-LX 5% та ЛПС супроводжувалась достовірним ( $p < 0,05$ ) зменшенням у сироватці крові рівня С-реактивного білка на 3, 7 добу відповідно на 30,7% та 35,0%; на 29,% та 32,9% у порівнянні з КП. Отже, на відміну від 0,9% розчину NaCl, КГР виявляли протизапальну дію в умовах ОШ.

На тлі запалення та ендотоксикозу в умовах ОШ формувалась системний оксидативний (рис.1), нітрозативний та сульфідний стрес (рис. 2). Це підтверджено вірогідним ( $p < 0,05$ ) зростанням у сироватці крові щурів КП (на тлі 0,9% розчину NaCl) рівня МДА та КГП: відповідно на 3 добу на 125,4 та на 115,5%;

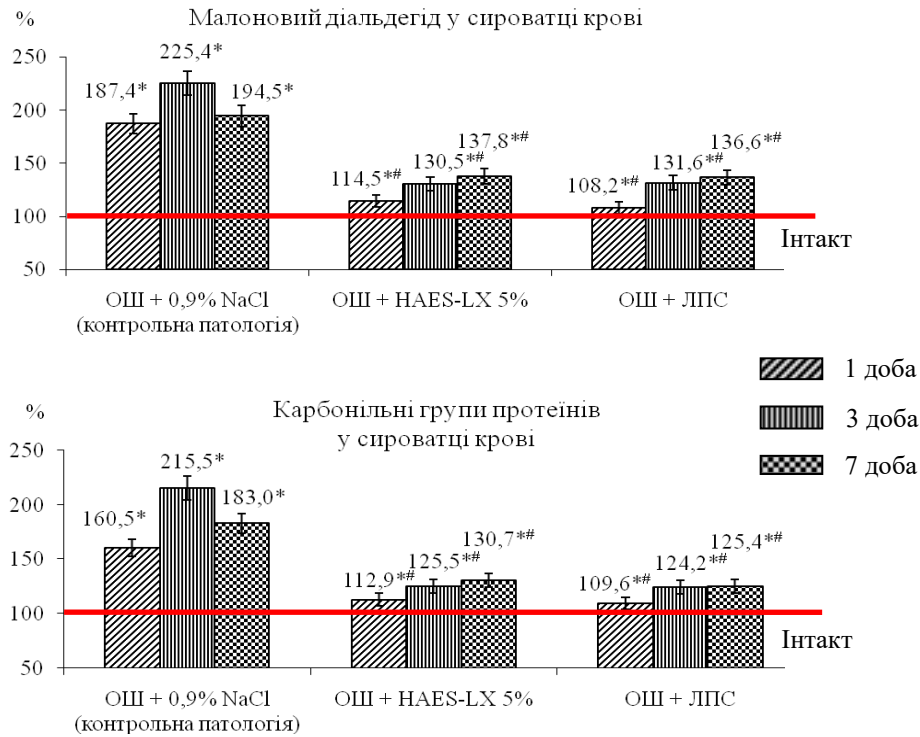


Рис.1 Вплив препаратів HAES-LX 5% та ЛПС на показники системного оксидативного стресу у щурів з ОШ на 1-3-7 добу.

Примітки. \* - відносно інтактних тварин,  $p < 0,05$ ; # - відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ .

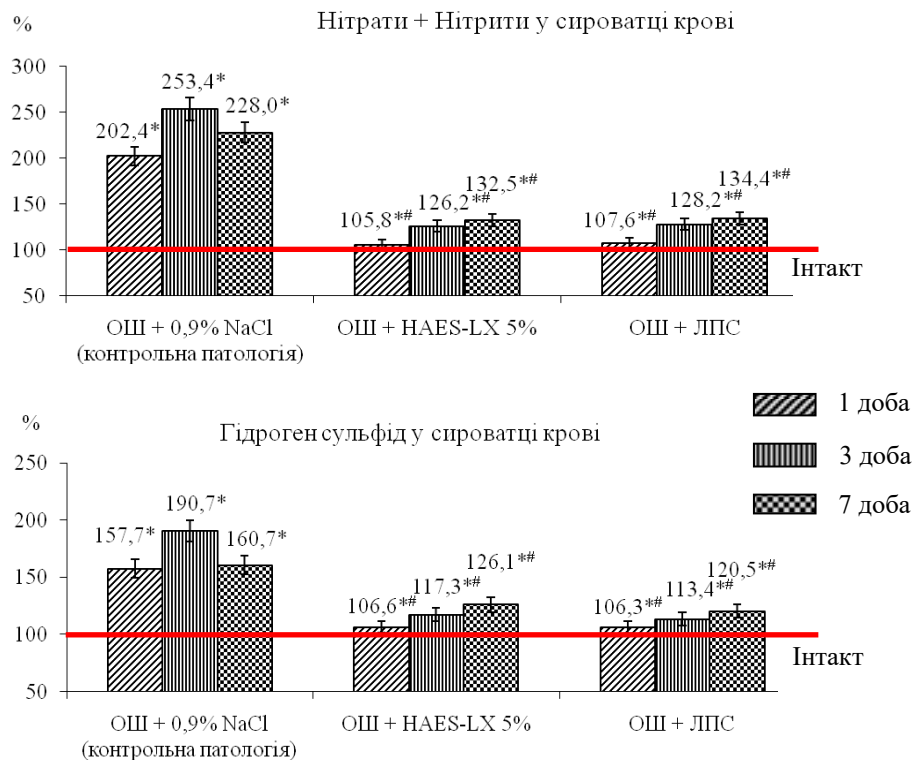


Рис. 2 Вплив препаратів HAES-LX 5% та ЛПС на показники системного сульфідного та нітрозативного стресів у щурів з ОШ на 1-3-7 добу.

Примітки. \* - відносно інтактних тварин,  $p < 0,05$ ; # - відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ .

на 7 добу на 94,5% та на 83% порівняно з інтактними тваринами. На тлі корекції розчинами НАЕС-LX 5% та ЛПС на 3 і 7 добу ОШ відбувалось достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження рівня МДА відповідно на 30,5% і 37,8% та на 31,6% і 36,6%; КГП – на 25,5% і 30,7% та 24,2% і 25,4% порівняно з КП. Отже, досліджувані розчини зменшували виразність системного оксидативного стресу, що свідчить про їх атиоксидантну та антитоксичну дію.

У сироватці крові тварин з групи КП вірогідно ( $p < 0,05$ ) зростав вміст вазоактивних газотрансмітерів нітритів та нітратів – метаболітів NO, та вміст  $H_2S$ : відповідно на 1 добу на 102,4% та 57,7%; на 3 добу на 153,4% та 90,7%; на 7 добу на 128,0% та 60,7% порівняно з інтактними тваринами. Розчини НАЕС-LX 5% та ЛПС вірогідно ( $p < 0,05$ ) знижували продукцію нітроген монооксиду та гідроген сульфід: на 3 добу нітритів і нітратів відповідно на 26,2% та 28,2%, а гідроген сульфід – на 17,3% та 13,4%; на 7 добу рівень нітритів та нітратів у сироватці крові знижувався на 32,5% та 34,4%, а рівень  $H_2S$  – відповідно на 26,1% та 20,5% відносно КП. Отже, застосування КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС при ОШ стримує розвиток системних метаболічних змін у організмі щурів. За вираженістю вказаних ефектів вони були однаковими.

За результатами макрометричних досліджень встановлено, що обидва розчини не чинили негативного впливу на абсолютну та відносну масу, об'єм та макроскопічний стан легень щурів без опіку, що свідчить про їх нешкідливість.

Опіковий шок призводив до змін макрометричних показників: збільшення відносної маси легень, змін зовнішнього стану легень щурів, що пов'язано з судинними порушеннями в органі (Э. Я. Фисталь и соавт., 2006). При застосуванні КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС у щурів з ОШ відбувається поліпшення макроскопічної картини легень у порівнянні з тваринами, що отримували 0,9% розчин NaCl. Проте на тлі дії всіх трьох розчинів спостерігали підвищення відносної маси легень протягом всього терміну досліду, що не приводило до змін об'єму легень. Характер описаного впливу досліджуваних засобів узгоджується з даними літератури про те, що в умовах наявного набряку легень ці розчини можуть призвести до його прогресування, тому і протипоказані в таких випадках (Б. О. Кондрацький та співавт., 2015). Відмічене зростання відносної маси легень на тлі усіх трьох розчинів підтверджує клінічно встановлені дані, але поряд з цим подальші результати дослідження мікро- і ультраструктури органу, стану апоптотичних процесів і наведених макроскопічних показників свідчать про відсутність будь-яких ознак набряку легень.

Розвиток системних змін: запалення, інтоксикації, оксидативного, нітративного та сульфідного стресу, призвів до патологічних змін у легенях – посилення процесів ПОЛ та білків. Про це свідчило вірогідне ( $p < 0,05$ ) зростання вмісту МДА і карбонільних груп протеїнів у гомогенаті легень відповідно: на 1 добу на 95,6% і на 89%; на 3 добу на 157,6% та на 143,6%; на 7 добу на 131% і на 111% порівняно з інтактними щурами. Застосування КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС у щурів з ОШ стримувало ( $p < 0,05$ ) гіперактивацію ПОЛ з максимумом на 7 добу: вміст у легенях МДА зменшувався відповідно на 42,1% та 37,4%, а КГП на 37,9% та 34,5% порівняно з контрольною патологією. Отже,

досліджувані препарати за гальмівним впливом на процеси перекисного окиснення ліпідів та білків у тканинах легень були однаковими.

Опіковий шок супроводжувався розвитком дисбалансу в системі про- та антиоксидантних ензимів у легенях: зростанням ( $p < 0,05$ ) активності прооксидантного ензиму НАДФН-оксидази на 76,0; 110,0; 87,0% та зниженням активності антиоксидантного ензиму СОД на 36,3; 52,8; 43,5% відповідно на 1, 3, 7 добу порівняно з інтактними тваринами, що узгоджується з даними літератури (К. Ю. Дмитрієва, 2004). Розчин НАЕС-LX 5% вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшував дисбаланс в системі про- та антиоксидантних ензимів у легенях, вже починаючи з 3 доби досліджу, а на 7 добу знижував активність НАДФН-оксидази на 36,0% та підвищував активність СОД на 41,5% відносно КП. Аналогічна тенденція цих показників спостерігалась і при використанні ЛПС.

Гіперпродукція АФК при ОШ супроводжувалась зміною фосфоліпідного спектру клітинних мембран легеневої тканини: у групі КП встановлено зниження ( $p < 0,05$ ) вмісту ФХ на 35,7; 46,9; 40,2% на тлі зростання рівня його окисненої форми ЛФХ на 34,1; 66,1; 47,6% і зниження співвідношення ФХ/ЛФХ на 52,0; 68,0; 60,6% відповідно на 1, 3, 7 добу відносно інтактних щурів. Застосування 0,9% розчину NaCl мало незначний протекторний ефект на фосфоліпідний дисбаланс. Інфузія досліджуваними засобами зменшувала ( $p < 0,05$ ) вираженість дисбалансу ФХ/ЛФХ, починаючи з 3 доби ОШ, а на 7 добу мала найбільший коригуючий вплив: зростання вмісту ФХ становило відповідно 23,4% та 18,7%, зменшення рівня ЛФХ – відповідно 19,2% та 18,3% та збільшення співвідношення ФХ/ЛФХ – відповідно 62,1% та 52,9% відносно показників КП. Отже, застосування КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС практично в однаковій мірі зменшувало пошкодження фосфоліпідного бішару легеневої тканини.

Аналіз маркерів ремоделювання сполучної тканини та фіброгенезу показав, що ОШ викликав істотні зміни у складі легневих біополімерів: вільного оксипроліну та ТФР- $\beta_1$  (рис. 3). На тлі застосування 0,9% розчину NaCl в сироватці крові встановлено вірогідне ( $p < 0,05$ ) зростання вмісту вільного оксипроліну на 59,5; 97,6; 70,2% та трансформуючого фактору росту ТФР- $\beta_1$  на 57,8; 137,0; 116,0% відносно інтактних тварин відповідно на 1, 3 і 7 добу. Фармакокорекція ОШ КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС попереджала ремоделювання сполучної тканини та фіброгенезу. На 7 добу антифіброгенна активність розчинів НАЕС-LX 5% та ЛПС була найбільшою ( $p < 0,05$ ) та співставною: порівняно з аналогічними показниками у групі КП зниження вмісту вільного оксипроліну в сироватці крові становило відповідно 24,7% та 21,4%, а трансформуючого фактору росту ТФР- $\beta_1$  – відповідно 35,2% та 34,1%.

Отже, за виразністю протизапальної, антитоксичної, антиоксидантної, мембраностабілізуючої та антифіброгенної дії досліджувані КГР були зіставлюваними.

Наступним етапом було вивчення впливу КГР на процеси клітинного циклу та апоптозу в легенях. У щурів без опіку на тлі розчинів 0,9% NaCl, НАЕС-LX 5% та ЛПС протягом 7 діб найбільша частина клітин перебувала у фазі спокою  $G_0G_1$  (80%) і співставима кількість клітин – у фазі синтезу (S) та апоптозу ( $SUB-G_0G_1$ ), тобто існував певний баланс між процесами синтезу і фрагментації

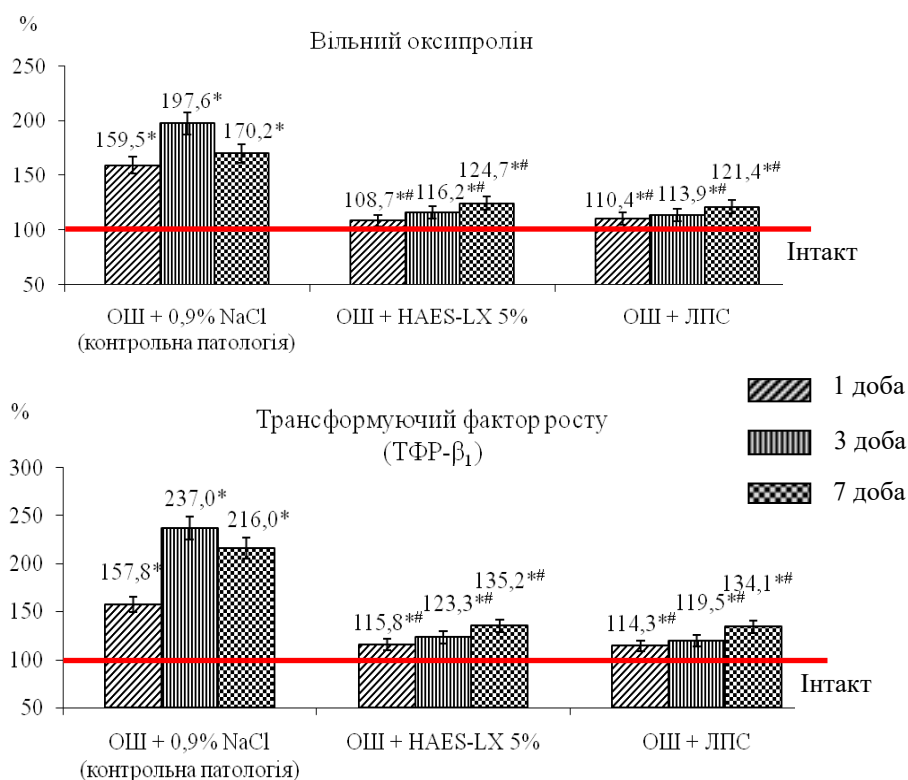


Рис. 3 Вплив препаратів HAES-LX 5% та ЛПС на вміст маркерів фіброгенезу (вільний оксипролін) та ремоделювання сполучної тканини легень (ТФР-β<sub>1</sub>) щурів з ОШ.

Примітки. \* - відносно інтактних тварин,  $p < 0,05$ ; # - відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ .

ядерної ДНК. Це свідчить про відсутність негативного впливу розчинів на процеси проліферації та апоптозу і узгоджується з даними A. J. Singer et al. (2008) і V. Galani et al. (2010). В умовах ОШ на тлі 0,9% розчину NaCl на 1 та 3 добу в клітинах легень активувались процеси апоптозу, про що свідчить вірогідне ( $p < 0,05$ ) збільшення кількості клітин у фазі  $G_0G_1$  та зниження кількості клітин у фазі проліферації ( $G_2+M$ ), при збереженій активності фази синтезу (S). При введенні КГР HAES-LX 5% та ЛПС на 3-7 добу вірогідно ( $p < 0,05$ ) зростала кількість клітин у фазі  $G_2+M$ , що свідчить про їх цитопротекторні властивості. На 7 добу у групі КП спостерігали посилення ( $p < 0,05$ ) блоку проліферації (BP) та індексу проліферації (IP). Досліджувані засоби зменшували ( $p < 0,05$ ) кількість клітин з фрагментованою ДНК, незначно збільшували IP і зменшували BP, що підтверджує їх антиапоптотичний ефект.

Для підтвердження безпеки препаратів та відсутності їх токсичної дії на структуру легень у тварин без опіку були проведені гістологічні та стереометричні дослідження. Встановлена відсутність достовірних відмінностей ВОПДЛ між групами тварин без опіку, яким вводили розчини ЛПС, HAES-LX 5% та 0,9% розчин NaCl. Засіб HAES-LX 5% не викликає патологічних змін у мікрота ультраструктурі легень тварин без опіку: у провідній системі бронхів, судинах, альвеолах, аерогематичному бар'єрі, альвеолоцитах II типу та, на відміну від препарату порівняння, не підвищує адгезію лейкоцитів до ендотеліоцитів і

не збільшує чисельність альвеолярних макрофагів, що підтверджує його нешкідливість, відсутність потенційних алергенних властивостей і переваги над ЛПС.

В умовах ОШ семиденне введення 0,9% розчину NaCl не справляло вираженого протекторного впливу на структуру легень щурів, про що свідчить наявність пошкоджень (рис. 4). Досліджуваний засіб НАЕС-LX 5%, на відміну від фізіологічного розчину, зменшував деструктивні зміни в легенях протягом усього терміну: сприяв відновленню ендотелію судин та утриманню рідини в мікроциркуляторному руслі, покращував морфофункціональний стан легень. Корекція структури легень розчином НАЕС-LX 5% була дієвішою порівняно з розчином ЛПС на 7 добу ОШ.

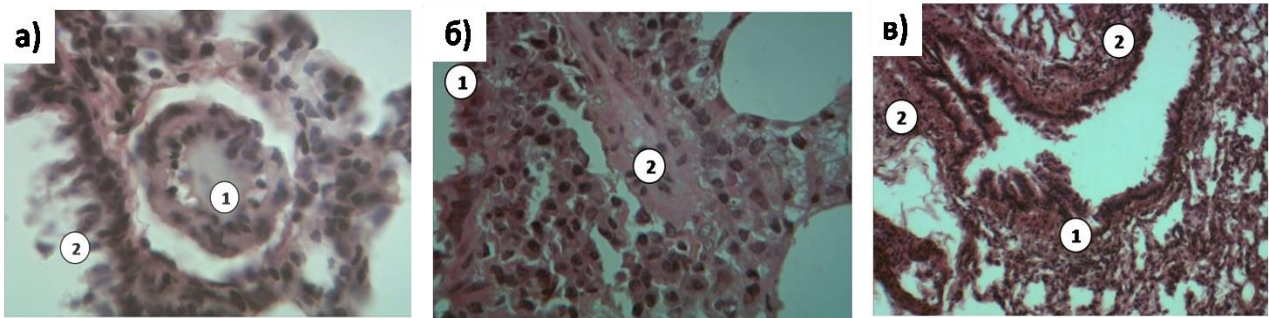


Рис. 4 Гістологічні зміни респіраторного відділу легень щурів з ОШ на 7 добу при введенні: а) NaCl: 1 – набряк стінки термінальних бронхіол; 2 – периваскулярний набряк інтерстицію та гістіолімфоцитарна інфільтрація; б) ЛПС: 1 – адгезія лімфоцитів у стінках бронхів; 2 – набряк оболонок бронхів; в) НАЕС-LX 5%: 1 – незначний набряк термінальних бронхіол; 2 – дифузна гістіолімфоцитарна інфільтрація. Гематоксилін-еозин. х 400.

На ультраструктурному рівні в умовах ОШ на тлі інфузії розчину 0,9% NaCl спостерігали ознаки пошкодження структури легень, що свідчить про його слабку захисну дію (рис. 5).

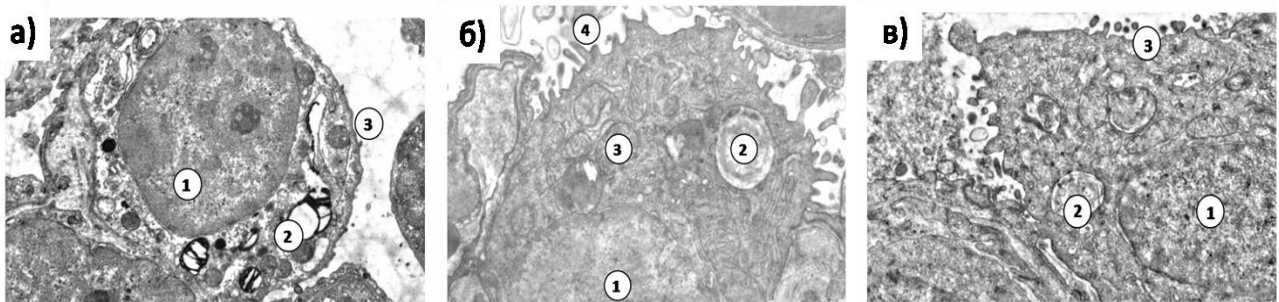


Рис. 5 Субмікроскопічні зміни респіраторного відділу легень (альвеолоцити II типу) щурів з ОШ на 7 добу при введенні: а) 0,9% NaCl: 1 – деформоване ядро; 2 – пластинчасті тільця без сурфактанту; 3 – поодинокі мікрворсинки на поверхні клітини. х 9000; б) ЛПС: 1 – округле ядро; 2 – напівпусті секреторні гранули; 3 – гіпертрофовані мітохондрії; 4 – апікальна ділянка плазмолемі з окремими мікрворсинками. х 15000; в) НАЕС-LX 5% : 1 – чітко контуроване ядро; 2 – секреторні гранули з сурфактантом; 3 – апікальна ділянка плазмолемі з чисельними мікрворсинками. х 15000.

На тлі розчинів НАЕС-LX 5% та ЛПС встановлено покращення ультраструктури легень з максимальним ефектом на 7 добу, що доведено меншим пошкодженням структурних компонентів альвеол: ендотеліоцитів, гемокапілярів, базальної мембрани, респіраторних альвеолоцитів, активацією секреторної функції альвеолоцитів II типу, продукуючих сурфактант.

Стереометричними дослідженнями встановлено, що у тварин з ОШ найвищий рівень пошкодження легеневої тканини спостерігався на тлі дії 0,9% розчину NaCl, що свідчить про його недостатню ефективність. Введення щуром з ОШ КГР НАЕС-LX 5% та ЛПС достовірно зменшувало ВОПДЛ протягом досліді відповідно: на 1 добу до  $0,370 \pm 0,032$  і  $0,379 \pm 0,031$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$  ( $p < 0,05$ ); на 3 добу до  $0,480 \pm 0,036$  і  $0,466 \pm 0,040$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$  ( $p < 0,05$ ); на 7 добу до  $0,676 \pm 0,048$  і  $0,691 \pm 0,026$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$  ( $p < 0,05$ ) порівняно з  $0,519 \pm 0,029$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$ ;  $0,626 \pm 0,024$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$ ;  $0,847 \pm 0,019$   $\text{cm}^3/\text{cm}^3$  при введенні 0,9% розчину NaCl.

Таким чином, отримані результати свідчать про пульмопротекторний ефект КГР НАЕС-LX 5% в умовах ОШ та про відсутність негативного впливу на функціональний стан легень за умови відсутності патології. Перспективою подальших досліджень є з'ясування найбільш оптимальних режимів застосування препарату НАЕС-LX 5% для корекції гомеостазу організму та функціонального стану легень при ОШ. Тим самим виконані поставлена мета дослідження і конкретні завдання, що дозволило зробити наступні висновки.

## ВИСНОВКИ

Висока частота розвитку ОШ в результаті опікової травми, тяжкість цієї патології, високий відсоток ураження легень при цьому, зокрема, розвиток гострого респіраторного дистрес-синдрому, і відома властивість інфузійних розчинів на основі ГЕК поряд з корекцією гіповолемічного шоку та септичного стану не збільшувати кількість рідини в легенях, не порушувати в них газообмін, актуалізує пошук та вивчення нових комбінованих колоїдно-гіперосмолярних інфузійних розчинів.

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування та нове експериментальне вирішення наукового завдання, спрямованого на підвищення ефективності фармакокорекції порушень гомеостазу та функціонального стану легень щурів в умовах ОШ шляхом застосування нового вітчизняного колоїдно-гіперосмолярного інфузійного розчину НАЕС-LX 5%.

1. Встановлено, що КГР НАЕС-LX 5% та препарат порівняння ЛПС сприяють вірогідному ( $p < 0,05$ ) підвищенню маси тіла тварин в середньому на 14,3% протягом 7 діб порівняно з вихідними даними, що було вірогідно вищим відносно інтактних тварин на 7 добу досліді та вірогідно ( $p < 0,05$ ) не підвищували рівень ЛШ. Це свідчить про відсутність їх негативного впливу на загальнотрофічні та дезінтоксикаційні процеси у тварин без опіку.

2. В умовах ОШ досліджуваний засіб НАЕС-LX 5% сприяє зниженню летальності тварин та посиленню загальнотрофічних процесів, що проявилось вірогідним ( $p < 0,05$ ) зростанням маси тіла на 7 добу відносно вихідних даних та даних на тлі дії 0,9% розчину NaCl. Це свідчить про більший захисний вплив

засобу НАЕС-LX 5% у порівнянні з фізіологічним розчином. Встановлено, що розчин НАЕС-LX 5% виявляє протизапальну та антитоксичну дію, вірогідно знижуючи ( $p < 0,05$ ) на 7 добу досліду рівень С-реактивного білка на 35,0 %, МСМ на 42,5 %, ЛПН на 56,6 % порівняно з аналогічними показниками у тварин з ОШ на тлі дії 0,9% розчину NaCl. За виразністю встановлених ефектів розчин НАЕС-LX 5% не поступається ПП ЛПС.

3. Доведена здатність засобу НАЕС-LX 5% гальмувати ознаки системного оксидативного, сульфідного та нітрозативного стресу шляхом вірогідного ( $p < 0,05$ ) зниження на 7 добу рівня МДА на 37,8%; карбонільних груп протеїнів на 30,7 %; нітроген монооксидів на 32,5%; гідроген сульфїду на 26,1 % порівняно з групою тварин з ОШ на тлі дії 0,9% розчину NaCl. За виразністю встановленого ефекту розчин НАЕС-LX 5% не поступається ПП ЛПС.

4. Встановлений позитивний вплив розчину НАЕС-LX 5% на функціональний стан легень за макрометричними показниками у щурів з ОШ та здатність вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшувати прояви оксидативного стресу в легенях, про що свідчить зниження на 7 добу досліду: вмісту МДА на 42,1%; карбонільних груп протеїнів на 37,9 %; зменшення дисбалансу в системі про- та антиоксидантних ензимів: зниження активності НАДФН-оксидази на 36,6%; підвищення активності СОД на 41,5%; корекція змін фосфоліпідного спектру клітинних мембран: підвищення вмісту ФХ на 23,4% та зменшення рівня ЛФХ на 19,2% і співвідношення ФХ/ЛФХ на 62,1% порівняно з групою тварин з ОШ під впливом 0,9% розчину NaCl. За виразністю встановлених ефектів розчин НАЕС-LX 5% та ПП ЛПС є зіставленими.

5. Доведено, що розчин НАЕС-LX 5% не поступається ПП ЛПС за величиною гальмівного впливу на процеси фіброгенезу та ремоделювання сполучної тканини легень тварин з ОШ: вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшуючи вміст вільного оксипроліну в сироватці крові на 24,7%; трансформуючого фактору росту (ТФР- $\beta_1$ ) на 35,2% на 7 добу досліду порівняно з групою тварин з ОШ на тлі дії 0,9% розчину NaCl.

6. Встановлено, що засіб НАЕС-LX 5% позитивно впливає на співвідношення показників клітинного циклу легень щурів з ОШ з максимумом на 3 добу: підвищує кількість клітин у фазі проліферативної активності в 1,57 разу ( $p < 0,05$ ) та зменшує кількість клітин з фрагментованою ДНК в 1,73 разу ( $p < 0,05$ ) порівняно з контрольною патологією, що підтверджує його цитопротекторні та антиапоптотичні властивості, виразність яких відповідає таким ПП ЛПС. Встановлена відсутність негативного впливу обох розчинів на процеси проліферації та апоптозу у легенях щурів без патології.

7. Введення розчину НАЕС-LX 5% тваринам без опіку не викликає патологічних змін у мікро- та ультраструктурі легень: у провідній системі бронхів, судинах, альвеолах, аерогематичному бар'єрі, альвеолоцитах II типу та, на відміну від препарату порівняння, не підвищує адгезію лейкоцитів до ендотеліоцитів і не збільшує чисельність альвеолярних макрофагів, що підтверджує його нешкідливість, відсутність потенційних алергенних властивостей і переваги над ЛПС.



8. Встановлена позитивна дія розчинів НАЕС-LX 5% та ЛПС на структурну організацію легень у тварин з ОШ з максимумом на 7 добу досліду, реалізація якої відбувається шляхом відновлення ендотелію судин, гемокапілярів, базальної мембрани, утримання рідини в мікроциркуляторному руслі, покращення стану аерогематичного бар'єру, стимуляції активності альвеолярних макрофагів та секреторної функції альвеолоцитів II типу, продукуючих сурфактант. За результатами стереометричного дослідження доведено, що засіб НАЕС-LX 5% і ЛПС рівною мірою вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшують відносний об'єм пошкоджених ділянок легень порівняно з фізіологічним розчином.

9. Розчин НАЕС-LX 5% виявляє виразний пульмопротекторний ефект, за яким не поступається препарату порівняння ЛПС, та є більш безпечним. Це обґрунтовує доцільність його подальшого застосування в клінічній практиці для фармакокорекції опікового шоку.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Яковлева О. О. Динаміка корекції гістологічних змін в легенях щурів при застосуванні інфузійних розчинів – НАЕС-LX 5% та лактопротеїну з сорбітолом в умовах опікової хвороби / О. О. Яковлева, А. О. Очеретнюк, О. В. Паламарчук // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2012. – № 4 (д) – С. 426-428. (Участь у проведенні досліджень, узагальнення результатів).

2. Очеретнюк А. О. Гістологічні зміни в легенях щурів протягом 7 діб після опіку шкіри III-а ступеня, площею 21-23% поверхні тіла та їх корекція ізотонічним розчином / А. О. Очеретнюк // Вісник морфології. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 237-241.

3. Гунас І. В. Корекція гістологічних змін в легенях щурів при застосуванні інфузійного розчину НАЕС -LX 5% в перші 7 діб після опіку шкіри / І. В. Гунас, О. О. Яковлева, А. О. Очеретнюк // Світ медицини та біології. – 2012. – № 4. – С. 73-76. (Участь у проведенні досліджень, узагальнення даних).

4. Ультроструктурний стан респіраторного відділу легень в ранні терміни після експериментальної термічної травми за умов застосування інфузійного розчину НАЕС-LX-5% / А. О. Очеретнюк, І. В. Гунас, З. М. Небесна, О. В. Паламарчук, С. В. Прокопенко // Український морфологічний альманах. – 2013. – Т.11, № 2. – С. 77-79. (Участь у проведенні досліджень, аналіз отриманих результатів).

5. Особенности клеточного цикла и фрагментация ДНК клеток легких крыс после ожога кожи / И. В. Гунас, А. А. Очеретнюк, И. Л. Черешнюк, Д. А. Лысенко // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2013. – № 3 (7). – С. 38-43. (Участь у проведенні досліджень, узагальнення результатів).

6. Очеретнюк А. О. Показники клітинного циклу клітин легеневої тканини щурів після опікового ураження шкіри / А. О. Очеретнюк, С. В. Прокопенко, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко // Світ медицини і біології. – 2014. – № 4 (46). – С. 129-135. (Участь у проведенні досліджень, аналіз отриманих результатів).

7. Дослідження фрагментації ДНК у тканинах легень щурів після застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% розчину

НАЕС-LX у гострому періоді опікової хвороби / А. О. Очеретнюк, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко, С. В. Прокопенко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 4-5 (40). – С. 66-72. (*Участь у проведенні досліджень, аналіз отриманих результатів*).

8. Зміни відносного об'єму пошкоджених ділянок легень у щурів протягом місяця після локальної гіпертермії шкіри та при корекції колоїдними гіперосмолярними розчинами / І. В. Гунас, О. І. Макарова, А. О. Очеретнюк, С. В. Прокопенко // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2014. – № 2 (21). – С. 54-58. (*Участь у дослідженнях, аналіз результатів*).

9. Очеретнюк А. А. Коррекция морфологических изменений в легких крыс инфузионными растворами при экспериментальной ожоговой болезни [Электронный ресурс] / А. А. Очеретнюк, О. А. Яковлева, О. В. Паламарчук // Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание. – 2015. – № 2. – Режим доступа: ([http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=1701](http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1701)). (*Участь у проведенні досліджень, узагальнення отриманих даних*).

10. Очеретнюк А. О. Вплив інфузійних розчинів лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5% на біохімічні маркери фіброгенезу легеневої тканини в щурів з опіковою травмою шкіри / А. О. Очеретнюк // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 2 (34). – С. 86-89.

11. Очеретнюк А. О. Вплив гіперосмолярного колоїдного розчину НАЕС-LX 5% на динаміку змін рівня ендогенної інтоксикації та запалення в організмі щурів у гострому періоді опікової хвороби / А. О. Очеретнюк // Клінічна фармація. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 58-61.

12. Пат. України на корисну модель №102971 МПК (2006.01) А61К 9/08. Спосіб корекції метаболічних порушень в легенях щурів при опіковій хворобі / А. О. Очеретнюк, О. О. Яковлева, Н. В. Заїчко, А. В. Мельник, О. І. Штатко; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова. – № u 201505484; заявл. 04.06.2015; опубл. 25.11.15, бюл. № 22. – 4 с. (*Патентний пошук, участь у проведенні досліджень, аналіз результатів*).

13. Очеретнюк А. О. Морфофункціональні зміни легень в гострій період опікової хвороби та їх фармакокорекція комплексними інфузійними препаратами / А. О. Очеретнюк // Молодь та перспективи сучасної медичної науки: матер. II міжнар. наук.-прак. конф. мол. вчених з міжнар. участю. – Вінниця, 17-18 травня 2011. – Вінниця, 2011. – С. 121-122.

14. Яковлева О. О. Вплив нового колоїдно-гіперосмолярного препарату на морфологічні зміни легень в умовах експериментального опікового шоку / О. О. Яковлева, А. О. Очеретнюк, О. В. Паламарчук // Стандарти діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб: матер. наук.-прак. конф. : тез. доп. – Вінниця, 11-12 квітня 2012. – Вінниця, 2012. – С. 113-114.

15. Ультраструктурні зміни респіраторного відділу легень щурів при застосуванні інфузійних розчинів НАЕС-LX 5% та лактопротеїн з сорбітолом / К. С. Волков, А. О. Очеретнюк, О. О. Яковлева, О. С. Азаров // Хімія природних сполук : матер. III Всеукр. наук.-прак. конф.: тез. доп. – Тернопіль, 30-31 жовтня. 2012. – Тернопіль, 2012. – С. 63-65.

16. Очеретнюк А. О. Корекція ультраструктурних змін легень щурів новим колоїдно-гіперосмолярним інфузійним розчином – НАЕС-LX 5% в умовах опікової хвороби / А. О. Очеретнюк, О. В. Паламарчук // Молодь та перспективи сучасної медичної науки: матер. IV міжнар. наук.-прак. конф. мол. вчених ВНМУ ім. М.І. Пирогова: тез. доп. – Вінниця, 17-18 травня 2013. – Вінниця, 2013. – С. 80-81.

17. Очеретнюк А. О. Вплив інфузійної терапії на стан оксидантно-антиоксидантної рівноваги у щурів в гострому періоді опікової хвороби / А. О. Очеретнюк, О. І. Штатко // Теоретические и практические аспекты современной медицины: матер. 85-й междунар. науч.-практ. конф. студ. и мол. ученых КГМУ: тез. доп. – Симферополь, 10-12 апреля 2013. – Симферополь, 2013. – С. 228-229.

18. Очеретнюк А. О. Сравнительная характеристика ультраструктурных изменений респираторного отдела легких крыс через 1,3,7 суток после ожога кожи III степени тяжести при инфузионной терапии новым коллоидно-гиперосмолярным раствором НАЕС-LX 5% и лактопротеин с сорбитолом / А. О. Очеретнюк, И. В. Гунас, С. В. Прокопенко // Проблемы биологии и медицины : матер. науч.-практ. конф. с междунар. участием: тез. докл. – Самарканд, 21-22 ноября 2013. – № 3/74. – Самарканд, 2013. – С. 64-65.

19. Очеретнюк А. О. Ультраструктурні зміни респіраторного відділу легень щурів у гострий період опікової хвороби за умов інфузійної терапії новим інфузійним розчином НАЕС-LX 5% та лактопротеїном з сорбітолом / А. О. Очеретнюк, О. О. Яковлева, К. С. Волков, О. В. Паламарчук // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини: матер. VII Всеукр. наук.-прак. конф. з міжнар. участю з клін. фармакології ім. М.І. Пирогова : тез. доп. – Вінниця, 25-26 листопада 2013. – Вінниця, 2013. – С. 197-200.

20. Очеретнюк А. О. Вплив інфузійної терапії на біохімічні показники легень щурів в гострому періоді опікової хвороби / А. О. Очеретнюк // Молодь та перспективи сучасної медичної науки: матер. V міжнар. наук.-прак. конф. мол. вчених ВНМУ ім. М.І. Пирогова: тез. доп. – Вінниця, 15-16 травня 2014. – Вінниця, 2014. – С. 88.

21. Очеретнюк А. О. Характеристика апоптозної реакції клітин легень у щурів з опіковою травмою під впливом курсової інфузії розчинами: 0,9% розчину NaCl , лактопротеїну з сорбітолом та НАЕС-LX-5% / А. О. Очеретнюк // Актуальні проблеми функціональної морфології: матер. наук.-прак. конф., тез. доп. – Полтава, 21 листопада 2014. – Полтава, 2014. – С. 31-32.

22. Використання проточної ДНК-цитометрії для оцінки клітинного циклу в клітинах легень при опіковій хворобі: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 123–2014 / С. В. Прокопенко, І. В. Гунас, І. Л. Черешнюк, А. О. Очеретнюк, О. І. Макарова . – К., 2014. – 3 с.

23. Перспективи використання проточної ДНК-цитометрії при опіковій хворобі для оцінки фрагментації ДНК в клітинах легень: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 124–2014 / С. В. Прокопенко, І. В. Гунас, І. Л. Черешнюк, А. О. Очеретнюк, О. І. Макарова. – К., 2014. – 3 с.

## АНОТАЦІЯ

**Очеретнюк А. О. Експериментальне обґрунтування корекції колоїдно-гіперосмолярним розчином НАЕС-LX 5% функціонального стану легень в умовах опікового шоку – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Дисертація присвячена доклінічному вивченню лікувальної дії нового колоїдно-гіперосмолярного розчину (КГР) НАЕС-LX 5% у порівнянні з референс-препаратом лактопротеїн з сорбітолом (ЛПС) при порушенні гомеостазу організму та пошкодженні легень щурів в умовах опікового шоку (ОШ), спричиненого опіковою травмою. Було досліджено вплив розчину НАЕС-LX 5% на динаміку показників виживаності, маси тіла, системної запальної реакції та ендогенної інтоксикації, оксидативного, нітрозативного та сульфідного стресу, дисбалансу про- та антиоксидантних систем на системному та органному рівнях, фосфоліпідного спектру клітинних мембран, маркерів деструкції та фіброгенезу, показників клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин легень, на морфологію та ультраструктуру легень.

За результатами дослідження встановлено, що розчин НАЕС-LX 5% виявляє протизапальний, антиоксидантний, мембраностабілізуючий, антифіброгенний, антиапоптозичний, цитопротекторний та пульмопротекторний ефекти та сприяє нормалізації порушених метаболічних процесів у організмі та тканинах легень щурів в умовах ОШ. Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування досліджуваного препарату в клінічній практиці при лікуванні опікового шоку.

*Ключові слова:* опікова хвороба, опіковий шок, інфузійна терапія, колоїдно-гіперосмолярні розчини, лактопротеїн з сорбітолом, гідроксиетилкрохмаль.

## АННОТАЦИЯ

**Очеретнюк А. А. Экспериментальное обоснование коррекции коллоидно-гиперосмолярным раствором НАЕС-LX 5% функционального состояния легких в условиях ожогового шока. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Диссертация посвящена доклиническому изучению лечебных свойств нового коллоидно-гиперосмолярного раствора (КГР) НАЕС-LX 5% при нарушении гомеостаза организма крыс и повреждении легких в условиях ожогового шока (ОШ), вызванного экспериментальной ожоговой травмой. В работе были использованы методы исследования: фармакологические (оценка эффективности и безопасности КГР НАЕС-LX 5% и лактопротеина с сорбитолом (ЛПС)); биохимические (определение маркеров нарушения гомеостаза организма и тканей легких крыс в условиях ОШ); гистоморфологические, электронно-

микроскопические, морфометрические (оценка патоморфологических признаков повреждения в легких крыс при ОШ в динамике и на фоне фармакотерапии инфузионными растворами); цитофлюорометрические (оценка процессов жизнеспособности клеток легких и апоптоза в динамике и на фоне фармакотерапии); статистические (параметрические за критерием Стьюдента и непараметрические методы анализа за U-критерием Мана-Уитни).

Впервые было исследовано фармакодинамическое влияние КГР НАЕС-LX 5% в сравнении с референс-препаратом ЛПС на функциональное состояние легких крыс в условиях ОШ. Экспериментально доказано наличие пульмопротекторного действия у КГР НАЕС-LX 5% в условиях ОШ и отсутствие его токсического влияния на состояние легких у животных без патологии на органном, клеточном и субклеточном уровнях. Доказано, что исследуемый КГР НАЕС-LX 5% проявляет противовоспалительную активность, уменьшает уровень эндогенной интоксикации, предупреждает развитие системного оксидативного, нитрозативного и сульфидного стресса, сдерживает развитие дисбаланса в про- и антиоксидантной системе, уменьшает активность ПОЛ и белков и предотвращает активацию фиброгенеза в легочной ткани, улучшая общетрофические процессы в организме и тканях легких крыс с ОШ. Было проведено патоморфологическое обоснование безопасности растворов НАЕС-LX 5% и ЛПС у крыс без ожога и их эффективности на фоне ОШ по динамике цитологических, гистоморфологических и ультраструктурных изменений респираторного отдела легких.

Раствор НАЕС-LX 5% на клеточном уровне способствует улучшению показателей клеточного цикла легких: уменьшает блок пролиферации (ВР), увеличивает синтез ДНК (S-фаза) и уменьшает количество клеток с фрагментированной ДНК в интервале апоптоза (SUB-G<sub>0</sub>G<sub>1</sub>), что свидетельствует об антиапоптотическом эффекте препарата. На субклеточном уровне доказана способность КГР НАЕС-LX 5% восстанавливать эндотелий сосудов, удерживать жидкость в микроциркуляторном русле, улучшать морфофункциональное состояние аэрогематического барьера легких, стимулировать активность альвеолярных макрофагов и секреторную функцию альвеолоцитов II типа, продуцирующих сурфактант, уменьшать объем поврежденных участков легких. По величине цитопротекторного эффекта на клетки легких в условиях ОШ раствор НАЕС-LX 5% сопоставляется, а в ряде случаев и превосходит референс-препарат ЛПС.

В результате исследований установлено, что КГР НАЕС-LX 5% обладает противовоспалительными, антитоксическими, антиоксидантными, мембраностабилизирующими, антифиброгенными, антиапоптотическими, цитопротекторными свойствами, которые составляют основу пульмопротекторного действия препарата и способствуют нормализации нарушенных метаболических процессов в организме и тканях легких крыс в условиях ОШ. Результаты исследования дополнили теоретические сведения о патогенезе ОШ, морфофункциональных изменениях в легких и характере репаративных процессов в органах дыхания при применении раствора НАЕС-LX 5%.

Таким образом, экспериментально обоснована целесообразность применения нового КГР HAES-LX 5% в качестве лекарственного средства метаболического действия в комплексной фармакотерапии ОШ. Полученные результаты создают основу для дальнейшего применения исследуемого препарата в клинической практике при лечении последствий ОШ.

*Ключевые слова:* ожоговая болезнь, ожоговый шок, инфузионная терапия, коллоидно-гиперосмолярные растворы, лактопротеин с сорбитолом, гидроксипсилкрахмал.

## SUMMARY

**Ocheretniuk A. A. Experimental substantiation of correction of pulmonary functional state in a burn shock using colloidal hyperosmolar solution HAES-LX 5%. – The manuscript.**

Thesis for the degree of candidate of pharmaceutical sciences in specialty 14.03.05 – pharmacology. – National University of Pharmacy of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The thesis is devoted to study of preclinical therapeutic action of the new colloid-hyperosmolar solution HAES-LX 5% in violation of homeostasis of the body and damage the lungs of rats in conditions of burn shock caused by burn injury.

A pharmacodynamic effect of new domestic HAES-LX 5% colloidal-hyperosmolar solution were compared with the ones of a reference drug – lactoproteinum with sorbitol on dynamics of survival, body weight, systemic inflammatory response and endogenous intoxication, oxidative, nitrosative and sulfide stress in rats' organism, indicators of pro- and antioxidative systems, phospholipids cell membranes, degradation and fibrogenesis markers, lung cell cycle and DNA fragmentation in rats' lungs, morphological and ultrastructural changes in respiratory tract

The study found that the solution HAES-LX 5% has anti-inflammatory, anti-toxic, antioxidant, membranestabilizative, antifibrogenic, antiapoptotic, cytoprotective and pulmoprotective effects. The results of the study have complemented the theoretical information related to the course of disease, the morphological changes in lungs in the period of burn shock and the nature of reparative processes in respiratory organs following the administration of HAES-LX 5% solution. The results obtained provide a basis for further use of the investigational drug in clinical practice for treatment of patients with burn shock.

*Key words:* burn disease, burn shock, infusion therapy, colloid-hyperosmolar solutions, lactoproteinum with sorbitol, hydroxyethylstarch.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АФК	– активні форми кисню;
ГЕК	– гідроксиетилкрохмаль;
ВОПДЛ	– відносний об'єм пошкоджених ділянок легень;
КГП	– карбонільні групи протеїнів;
КГР	– колоїдно-гіперосмолярний (і) розчин (и);
ЛПС	– лактопротеїн з сорбітолом;
ЛФХ	– лізофосфатидилхолін;
ЛШ	– лейкоцитарний індекс інтоксикації;
НАДФН	– нікотинаміддинуклеотидфосфат–оксидаза;
МДА	– малоновий діальдегід;
МСМ	– молекули середньої маси;
ОХ	– опікова хвороба;
ОШ	– опіковий шок;
ПП	– препарат порівняння;
СОД	– супероксиддисмутаза;
ТФР- $\beta_1$	– трансформуючий фактор росту;
ФХ	– фосфатидилхолін;
G <sub>0</sub> C <sub>1</sub>	– фаза проліферативного спокою;
S	– фаза синтезу;
G <sub>2</sub> +M	– фаза проліферативної активності;
IP	– індекс проліферації (S + G <sub>2</sub> + M) ;
BP	– блок проліферації(S/(G <sub>2</sub> + M)) ;
SUB-G <sub>0</sub> G <sub>1</sub>	– показник апоптозу (фрагментація ДНК).

Підписано до друку 15.12.2016 р. Формат 60×90/16. Папір офсет. Друк офсет.

Умов.друк.арк. 0,7. Тираж 100 прим. Замовл. № 316/12

Надруковано у копії-центрі «МОДЕЛІСТ», ФО-П Миронов М.В.,

м. Харків, вул. Мистецтв, 3 літер Б-1.

Тел. (057) 7-170-354 e-mail: [kmodelist@ukr.net](mailto:kmodelist@ukr.net)

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ВО 4 № 022953