

На правах рукописи

**Евтушенко Диана Николаевна**

**СУРФАКТАНТ-ОРИЕНТИРОВАННЫЕ ЭФФЕКТЫ Xe/O<sub>2</sub> ИНГАЛЯЦИЙ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИТАХ  
(*in vivo et in silico* исследование)**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Томск – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательском институте фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

**Научный руководитель:**

заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор, член-корреспондент РАН

**Удуд Владимир Васильевич**

**Официальные оппоненты:**

**Хлусов Игорь Альбертович**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией клеточных и микрофлюидных технологий

**Потиевская Вера Исааковна**, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена, заведующий научной группой кардиоонкологии

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», г. Новосибирск

Защита состоится «.\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026. г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», по адресу: 634028, г. Томск, пр. Ленина,3, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук

**Минакова Мария Юрьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Заболевания, вызываемые респираторными и, в частности, коронавирусными инфекциями представляют серьёзную угрозу для здоровья людей, несмотря на усилия медиков, фармакологов и всего мирового научного сообщества [Sreepadmanabh M. et al, 2020; Alsharif W. et al, 2021; Majumder J. et al, 2021; Marian AJ. 2021; Savushkina OI. et al, 2022; Romanenko NA. et al, 2023; Petrov KV. et al, 2023; Wanga K, et al, 2024].

Закономерно, что в их профилактике основной акцент делается на разработке вакцин, формирующих в организме надёжный иммунный ответ [Alsharif W. et al, 2021; Majumder J. et al, 2021; Marian AJ. 2021]. Однако, применительно к COVID-19, высокая генетическая изменчивость SARS-CoV-2 [Badua C.L.D.C. et al, 2021], несовершенство вакцинного иммунитета [Kang H. et al, 2020], а также множество пока ещё неизвестных факторов патогенеза COVID-19 по-прежнему препятствуют достижению его адекватного популяционного уровня [Lazarevic I. et al, 2021]. В связи с этим разработка новых подходов к лечению инфекций по типу SARS-CoV-2 и их осложнений остаётся актуальной задачей.

Выделяют этиотропные и патогенетически нацеленные варианты терапии, где значительная роль отводится созданию новых противовирусных средств с репозиционированием известных и неспецифической профилактике, коррекции и лечению развившихся и потенциальных осложнений [Marian AJ. 2021].

С учётом «входных ворот» рассматриваемых форм инфекционных патогенов, ожидаемо преобладание лёгочных повреждений, а информация о нюансах тропности сосудистого эндотелия и, в частности, его рецептора АПФ к шиповидному отростку вируса, является объяснением высоких рисков и имеющих место поражений микрососудистого русла альвеолярно-капиллярной зоны. Совокупность повреждения ткани лёгкого и его микрососудистого русла приводят к дыхательной недостаточности и нарушениям газообмена. Именно вентиляционная недостаточность и нарушения газообмена остро возникают и длительно сохраняются даже при интенсивном лечении пневмонитов [Rogers JP. et al, 2020; Biancari F. et al, 2021; Garfield B. et al, 2021; Lai CC. et al, 2020]. При этом тяжесть заболевания зачастую определяется выраженностью развивающегося острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [Lai CC. et al, 2021].

Детализируя обозначенные повреждения, возникающие при коронавирусной инфекции, нужно еще раз подчеркнуть, что именно воспаление в терминальных отделах лёгких играет основную роль и в патогенезе нарушений их вентиляционной функции, и в механизмах нарушений гемостаза [Tay MZ. et al, 2020; Colling ME. et al. 2020; Miesbach W. et al, 2020]. Клиническим подтверждением этого выступают данные компьютерной томографии (периферические субплевральные лёгочные затемнения по типу матового стекла) [Pontone G. et al, 2021] и определяемые в биохимическом анализе высокие уровни D-димера, как интенсификации реакции противосвертывающей системы и, в частности, фибринолиза в ответ на тромботические явления в микрососудистом русле [Rostami M. et al, 2020]. Ну и,

конечно же, имеют место значимые снижения сатурации  $pO_2$  крови [Voennov OV. et al, 2023], как ведущей характеристики в диагностике нарушения газообмена и вентиляционной недостаточности.

Нельзя не упомянуть и то, что, наблюдаемые при COVID-19 тяжёлые поражение терминальных отделов лёгких, приводя к формированию ателектазов, тромбозам микрососудов, нарушениям микромеханики альвеол, затрудняют быстрое восстановление вентиляционной функции и увеличивают риск развития лёгочного фиброза, который, в свою очередь, негативно сказывается на газообмене [Zhao YM. et al, 2020; Tong M. et al. 2021; George PM. et al, 2020; Tale S. et al, 2020].

При объяснении причин возникновения осложнений по типу вентиляционной недостаточности, следует подчеркнуть ведущую роль нарушений микромеханики лёгочных альвеол, напрямую связанных или даже определяющихся изменениями структуры и функции лёгочного сурфактанта (ЛС) [Bernardino de la Serna J. et al, 2013]. Действительно, воспалительный процесс в терминальных отделах лёгочной ткани, развивающийся по типу острого, либо подострого респираторного дистресс-синдрома приводит к выраженным изменениям архитектоники лёгочного сурфактанта и нарушению его способности обеспечивать низкое поверхностное натяжение, что выступает причиной «схлопывания» альвеол [Bernardino de la Serna J. et al, 2013; Olmeda B. et al, 2015; Cabré E.J. et al, 2009] со всеми вытекающими негативными последствиями.

С учётом строения лёгочного сурфактанта и ведущей роли его фосфолипидов в пленкообразовании для сохранения и поддержания низкого поверхностного натяжения внутренней выстилки альвеол, особый интерес могут представлять средства его замещения, либо восстановления. Теоретически, высокая липофильность существующих или разрабатываемых средств действия на «рабочую часть» лёгочного сурфактанта, предпочтительна. В обозначенных условиях воспалительного повреждения лёгочной ткани обязательным представляется противовоспалительная терапия с акцентом на реабилитацию лёгочного сурфактанта.

Именно поэтому в предлагаемом исследовании основной упор сделан на восстановление пневматизации лёгких и изучение вариантов неспецифической превенции и коррекции осложнений со стороны дыхательной (вентиляционной) системы при пневмонитах через восстановление ключевой функции лёгочного сурфактанта - обеспечение и поддержание низких значений поверхностного натяжения его плёнок в альвеолах.

**Степень разработанности.** Действительно и в острый период, и в период постковидной реабилитации основной терапевтической мишенью выступает борьба за восстановление функций лёгких с ликвидацией дыхательной недостаточности и оптимизацией газообмена, как наиболее значимых клинических проявлений заболевания. В мероприятиях по борьбе с дыхательной недостаточностью и ею обусловленной гипоксемией в первую очередь следует упомянуть полученный значительный положительный опыт  $O_2$  - терапии, распространяющийся и на острый

период, и на период реконвалесценции [Kasielska-Trojan A. et al, 2024; Lin L-Y. et al, 2024]. Позиционируется практически близким к вариантам этиотропной терапии ингаляционное применение высокотемпературной смеси He и O<sub>2</sub>, где, без объяснения механизмов (отмечается лишь необходимое условие - термочувствительность инфекционных возбудителей), приводится широкий спектр позитивных эффектов, в конечном итоге обеспечивающих быстрое выздоровление [Чыонг Т.Т. и др, 2021; Лахин Р.Е. и др, 2022].

В программах прерывания порочного круга (воспаление – гипоксия – повреждение – воспаление ...) применяются лекарственные препараты, нацеленные на восстановление функции лёгких (бронходилататоры, антикоагулянты, антиагреганты, противовоспалительные средства). В острый же период предпринимаются попытки восстановления пневматизации лёгких путём, в рамках заместительной терапии, ингаляционного введения сурфактантов [Echaide, M. et al, 2017; Rosenberg O. A. et al, 2007]. Для терапевтических мероприятий периода реабилитации в основном используются такие подходы как лечебная дыхательная гимнастика, физиотерапевтические процедуры [Tale S. et al, 2020; Asly M. et al, 2020].

Принципиально важными для предлагаемого исследования являются постковидные нервно-психические расстройства (НПР), такие как депрессия, тревожные расстройства, бессонница и др. [Abboud H. et al, 2020; Rogers JP. et al, 2020;]. Перечисленные осложнения не случайны и формируются, как результат прямых повреждений нервной ткани SARS-CoV-2 [Li YC. et al, 2020; Sephrinezhad A. et al, 2020] и, конечно-же, за счёт негативных последствий длительной гипоксемии острого периода заболевания.

В купировании и коррекции перечисленных расстройств, вне зависимости от причин их возникновения, эффективно используется способ коррекции острых и хронических стрессовых расстройств, заключающийся в применении ксенона в виде газовой смеси Xe/O<sub>2</sub> (Медицинская технология №ФС 2010/227 от 17.06.2010г. «Способ коррекции острых и хронических стрессовых расстройств на основе ингаляции терапевтических доз медицинского ксенона марки КсеМед») [Frontera A., 2020; Dobrovolsky A. et al, 2020; Maze M. et al, 2020; Shao J. et al, 2020].

Ключевой предпосылкой выполнения данного исследования явились результаты клинических наблюдений, в которых была подтверждена высокая эффективность кратковременных ингаляций Xe/O<sub>2</sub> газовой смеси в отношении купирования дыхательной/вентиляционной недостаточности у пациентов перенесших COVID-19 [Udut V.V. et al, 2021]. Действительно, ненаступление субнаркологических эффектов при ингаляции Xe/O<sub>2</sub> дыхательной смеси сопровождалось купированием явлений дыхательной недостаточности и выраженным повышением рО<sub>2</sub> крови, что, вкупе с известными данными о высокой липофильности ксенона, позволило предположить его взаимодействие с доступными для контакта липидами легких и, в частности, с легочным сурфактантом.

Таким образом, в существующих тактиках неспецифического лечения COVID-19 и его осложнений особое место занимают методы ингаляционной доставки лекарственных средств ( $O_2$ ,  $He/O_2$ ,  $Xe/O_2$ , сурфактант и др.) и принятие ведущими причинами нарушений пневматизации периферических отделов лёгких сурфактантную недостаточность и микроциркуляторный блок.

**Цель исследования:** определение Хе-опосредованных и сурфактант-ориентированных эффектов с *in vivo et in silico* объяснением механизмов их реализации при ингаляционном поступлении Хе/ $O_2$  газовой смеси.

**Задачи:**

- в контроле и на модели экспериментального пневмонита *in vivo* определить эффекты Хе/ $O_2$  ингаляций в отношении модуляции поверхностного натяжения лаважной жидкости;
- *in vivo*, на двух моделях экспериментального пневмонита оценить эффекты кратковременных ингаляций Хе/ $O_2$  газовой смеси в отношении развития воспаления (повышение температуры тела, снижение альвеолярной воздушности, увеличение бронхиального экссудата, тромбозов и геморрагий в тканях лёгких) и изменения гемостатического потенциала;
- основываясь на анализе полученных экспериментальных данных, имеющих клинических наблюдениях и литературе предложить вероятный механизм взаимодействия фосфолипидов с Хе, обеспечивающий терапевтические эффекты - восстановление функционально активной плёнки легочного сурфактанта;
- в рамках предложенного механизма, *in silico* оценить тропность Хе к липофильной части инактивированного ЛС, агрегированного в экссудате по данным квантово-химических расчётов термодинамических параметров соответствующих реакций;
- исследовать (*in silico*) влияние молекул  $O_2$  на атомарный Хе в ингаляционной Хе/ $O_2$  газовой смеси;
- на моделях агрегированных фосфолипидов легочного сурфактанта различного строения и состава, *in silico* оценить сравнительную тропность He, Ne, Ar, Kr и Хе к липофильной части инактивированного легочного сурфактанта, агрегированного в экссудате и на поверхности эпителиальной выстилки альвеол.

**Научная новизна:**

В работе, по результатам экспериментальных *in vivo* исследований и измерений поверхностного натяжения бронхо-альвеолярной лаважной жидкости впервые показано, что величина коэффициента поверхностного натяжения отражает функциональное состояние легочного сурфактанта в отношении его плёнообразующей способности.

Впервые, по результатам изучения фармакологических эффектов ингаляций Хе/ $O_2$  газовой смеси на двух экспериментальных моделях пневмонитов, вызванных интратрахеальным введением ЛПС, либо ацидин-пепсина, показана возможность

реабилитации функциональной активности легочного сурфактанта за счёт восстановления его плёнообразующей способности. При этом, ингаляционное введение Хе в составе Хе/O<sub>2</sub> газовой смеси в соотношении 30%/70% в течении 20 минут ежедневно обеспечивало снижение выраженности воспалительного ответа с 1-х суток, а к 5-ым суткам наблюдения/лечения у животных, получавших Хе, в отличие от контроля, купировались мониторируемые признаки воспаления (повышение температуры тела, снижение альвеолярной воздушности, увеличение бронхиального экссудата, тромбозов и геморрагий в тканях лёгких).

Впервые, по результатам *in silico* исследований с использованием квантово-химических расчетов методами ТФП, описан механизм, объясняющий фармакологический эффект восстановления плёнообразующей способности ЛС при ингаляционном поступлении Хе в составе Хе/O<sub>2</sub> газовой смеси. Механизм заключается во взаимодействии Хе с остатками жирных кислот (ацильными радикалами) фосфолипидов в агрегатах ЛС при температуре 310 К (37°C) с образованием нестабильных интермедиатов благодаря силам Ван-дер-Ваальса. Последующий распад интермедиатов с образованием свободных молекул фосфолипидов и атомов Хе сопровождается восстановлением латеральной подвижности молекул фосфолипидов, что обеспечивает восстановление функциональной активности плёнки ЛС. Высвобождающийся Хе может поступать в рецикл, взаимодействия с фосфолипидами, иммобилизованными в агрегатах инактивированного ЛС.

Впервые определено, что способствующими реализации и поддержанию фармакологического эффекта Хе факторами, выступают: поляризация ксенона в Хе/O<sub>2</sub> газовой смеси и невлиание на термодинамику реакций сольватации водой.

Впервые, по результатам компьютерного моделирования, показано, что предложенный механизм приемлем для взаимодействия агрегированных фосфолипидов ЛС и с такими благородными газами, как He, Ne, Ar, Kr, однако рассчитанные термодинамические параметры процесса, свидетельствуют в пользу 'большой эффективности Хе.

**Теоретическая и практическая значимость.** С позиций теоретической значимости работы, результатом выполненного исследования явилась *in vivo et in silico* полученная и подтверждённая информация о внутрилёгочных эффектах ингаляционного поступления Хе в составе Хе/O<sub>2</sub> газовой смеси, где первичной мишенью Хе выступают остатки жирных кислот фосфолипидов в агрегатах лишённого функциональной активности лёгочного сурфактанта. Взаимодействие Хе с агрегированным лёгочным сурфактантом, через образование промежуточных интермедиатов, обеспечивает последующее восстановление его плёнообразующей активности. В плане практической значимости полученных результатов, наибольшего внимания заслуживают данные о механизмах реализации, зарегистрированных в клинике и на *in vivo* моделях пневмонитов эффектов восстановления пневматизации повреждённой лёгочной ткани.

**Методология и методы исследования.** В соответствии с поставленными задачами были задействованы современные методические подходы и соответствующие высокоинформативные экспериментальные и вычислительные методы, которыми располагают научно-исследовательские лаборатории НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга Томского НИМЦ, НИ ТГУ и Суперкомпьютерный центр ТГУ «Cyberia». Исследования были одобрены Комиссией по биоэтике НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга (протокол-заявки № 168032020 от 18.05.2020 г.).

#### **Положения, выносимые на защиту:**

- основным фармакологическим эффектом ингаляционного поступления ксенона является реабилитация функциональной активности лёгочного сурфактанта за счёт восстановления его плёнообразующей способности;
- величина силы поверхностного натяжения лаважной жидкости может выступать критерием оценки функционального состояния легочного сурфактанта, характеризуя его плёнообразующую способность;
- основой механизма реализации фармакологической активности ингаляционного поступления ксенона в составе Xe/O<sub>2</sub> газовой смеси является его взаимодействие с липофильной частью инактивированного лёгочного сурфактанта, агрегированного в экссудате и/или на поверхности эпителиальной выстилки альвеол, что приводит к восстановлению функционально активной плёнки сурфактанта.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов обеспечена достаточным объёмом экспериментальных и теоретических материалов исследования, использованием современных методических подходов, современного оборудования и методов компьютерного моделирования. Основные положения диссертационной работы были доложены на Научной сессии общего собрания СО РАН «Вклад научных и образовательных организаций Сибири в преодоление пандемии» (г. Новосибирск 2021); VIII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (г. Санкт-Петербург 2023); IX Международный Симпозиум «Химия и химическое образование» (г. Владивосток 2024, ДВФУ); Всероссийская научная конференция «Фармакологические подходы в регенеративной медицине», посвященная 40-летию НИИФИРМ имени Е.Д. Гольдберга (г. Томск 2024); X Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием по физиологии и патологии системы гемостаза «Баркагановские чтения», к 100-летию со дня рождения профессора З.С. Баркагана (г. Барнаул 2025).

#### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных научных работ, из них 4 статьи в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты

диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, а также входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus; 4 тезиса в материалах всероссийских и международных научных конференций.

#### **Личный вклад автора**

Автором проведено компьютерное моделирование, и участие в экспериментальных *in vivo* исследованиях, а также обработке, обобщении и интерпретации полученных результатов. При непосредственном участии автора проведён анализ, обсуждение и подготовка материалов для публикаций по теме диссертационного исследования.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 117 страницах машинописного текста. В структуре диссертации выделено: введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы, который содержит 165 источника. Работа содержит 7 таблиц, 25 рисунков и приложение.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов работы.

**В первой главе** проведён анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования. В разделе 1.1 даётся описание патогенеза и реконвалесценции при вирусных заболеваниях, в частности COVID-19. В разделе 1.2 рассмотрена гистопатология и патофизиология острого респираторного дистресс синдрома (ОРДС), являющегося основной причиной высокой летальности SARS-CoV-2, а также биомаркеры, характеризующие ОРДС и современные способы фармакологического лечения. Раздел 1.3 посвящён лёгочному сурфактанту (ЛС), деградация которого приводит к ОРДС и вызывается вирусными инфекциями. Там же описаны известные способы восстановления ЛС. Особое внимание уделено применению медицинских газов, в том числе инертных газов, чему отводится заключительный раздел 1.4 обзора. В этой связи наиболее подробно рассматривается применение в медицине ксенона (Xe), современное понимание механизмов его действия, а также приводится описание клинического случая успешного применения Xe для лечения ОРДС.

**Во второй главе** диссертации содержится описание материалов и методов исследования. Исследования проводились на базе Лаборатории физиологии, молекулярной и клинической фармакологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга г.Томск. Работа была одобрена Комиссией по биоэтике НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

*Моделирование ОРДС при пневмоните.*

Эксперименты проведены на аутбредных мышах CD 1 (питомник НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, сертификат здоровья имеется). Мышей содержали в соответствии с правилами принятыми в «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г., Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», 01.08.2015.».

Использовались известные модели ОРДС при пневмонитах [Калашникова С. А., 2017; Pomytkin I. et al, 2020; Si M. et al, 2013]. В условиях общей анестезии (внутрибрюшинно: ксилазин 0,3 мл/кг (Interchemiewerken, Нидерланды) и золетил 0,2 мл/кг (Virbac, Франция)) ОРДС моделировали прямым повреждением легких путем однократного интратрахеального введения липополисахарида E.coli (Sigma-Aldrich) в объеме 0,02 мл на 10 г животного - модель ОРДС<sub>E.coli</sub>, либо однократного введения ацидин-пепсина с рН-1,2 (ОАО «Белмедпрепараты») в количестве 0,04 мл на животное - модель ОРДС<sub>ап</sub>.

Было сформировано 3 группы животных: интактный контроль (n=40); ОРДС<sub>E.coli</sub> (n=40); ОРДС<sub>ап</sub> (n=40). Группы с ОРДС<sub>E.coli</sub> (n=40) и ОРДС<sub>ап</sub> (n=40) были разделены на равные части, где 20 особей из каждой модели вентилировались O<sub>2</sub>/Xe смесью (ОРДС<sub>ап+Xe</sub> и ОРДС<sub>E.coli+Xe</sub>), а 20 особей – O<sub>2</sub>/воздушной (ОРДС<sub>ап+O<sub>2</sub></sub> и ОРДС<sub>E.coli+O<sub>2</sub></sub>). Исследования с забором материала проводили через 1, 3, 5, 7 сутки (терминальные точки) после моделирования ОРДС. Ингаляционное введение Xe в составе Xe/O<sub>2</sub> газовой смеси. Первую ингаляцию проводили через 1 час после моделирования ОРДС.

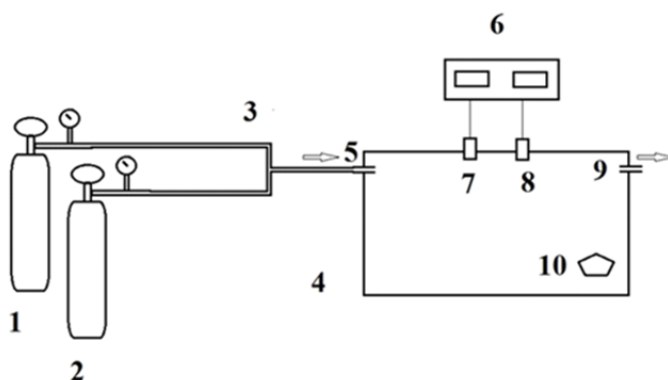


Рисунок 1 — Установка для ингаляции газовой смесью.

(1) баллон с ксеноном, (2) баллон с кислородом, (3) газовый тракт, (4) корпус камеры для ингаляции, (5) штуцер для входа газа, (6) газоанализатор, (7) датчик кислорода, (8) датчик ксенона, (9) штуцер для выхода избытка газа, (10) сорбент углекислого газа. [Fedorova E.P., et al., 2023]

Ингаляции O<sub>2</sub>/Xe смеси в соотношении 70% / 30%, соответственно, проводили в герметичной ингаляционной камере с контролем состава смеси газоанализатором «ГКМ-03» (ЗАО «ИНСОВТ», Россия).

Для оценки потребления газов на этапах эксперимента во время процедуры проводили оцифровку показателей по  $\text{Xe}$  и  $\text{O}_2$ , что позволило определить их потребление. Избыток  $\text{CO}_2$  удаляли с помощью специфического сорбента. Длительность содержания животных в «камере» составляла 20 минут, один раз в сутки, начиная с первых суток, в течение 5 дней. На рисунке 1 представлена схема экспериментальной установки для проведения ингаляций.

#### *Определение величины поверхностного натяжения лаважной жидкости*

Традиционным способом выделения легочного сурфактанта является получение бронхоальвеолярного смыва (лаважной жидкости) с последующим его фракционированием. Для этого легкие промывали 3 раза при одновременном мягком массаже легочной ткани под визуальным контролем. Общий объем полученного бронхоальвеолярного смыва центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин для удаления клеточных элементов. Надосадочную жидкость забирали и использовали для определения коэффициента поверхностного натяжения. Измерение поверхностного натяжения лаважной жидкости проводили методом отрыва кольца (метод дю Нуи) с помощью тензиометра К6 фирмы KRUSS при температуре 25 °С.

#### *Гистологические исследования*

Повреждения легких при ОРДС<sub>e.coli</sub> и ОРДС<sub>ап</sub> оценивали с помощью световой микроскопии серий гистологических препаратов по мере выведения из эксперимента по срокам наблюдения (1, 3, 5 и 7 сут). Легкие фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали (автомат для гистологической обработки тканей SNP-120, MICROM International GmbH), заливали в парафин (станция для заливки парафином EC 350-d, MICROM International GmbH), изготавливали срезы толщиной 5 мкм (микротом ротационный серии HM340E, с системой переноса срезов. Thermo Fisher scientific) и окрашивали их гематоксилином и эозином (ROBOT-STAINER HMS 740, MICROM International GmbH). Микроскопическое исследование и микрофотографии выполняли на микроскопе Axio Lab.A1 с помощью видеокамеры Axio Cam ERc 5s и программного обеспечения AxioVision Rel.4.8.

*Измерение (мониторирование) массы тела и лёгких.* Один раз в сутки измеряли массу животных, а на терминальных точках оценивали, массу лёгких (Весы лабораторные Scout Pro).

#### *Коагулологические исследований (определение уровня АТ-III)*

Содержание антитромбина III (АТ-III) определяли на полуавтоматическом анализаторе HelenaC4 (HelenaBioSciencesEurope, Великобритания), кровь забирали из сердца в пробирки с цитратом натрия 3,8% в соотношении 1:9. Принцип метода основан на способности АТ-III нейтрализовать тромбин в присутствии гепарина. Активность АТ-III определяют в плазме крови, добавляя к ней избыток тромбина с гепарином. При этом происходит ингибирование тромбина комплексом АТ-III-гепарин пропорционально количеству АТ-III в плазме. Оставшееся количество тромбина катализирует отщепление паранитроанилина (pNA) от синтетического хромогенного субстрата. Абсорбция свободного pNA, определяемая при длине волны 405 нм, обратно пропорциональна активности АТ-III в

анализируемой пробе. Процесс идет по следующей схеме: АТ-III + гепарин (избыток) + тромбин (избыток) → АТ-III-гепарин-тромбин + тромбин (остаток). Тромбин (остаток) + субстрат- рNA → Пептид + рNA.

*Статистическая обработка экспериментальных данных* проводилась программой StatPlus версии 7.6.5. Для каждой выборки вычисляли среднее арифметическое ( $\bar{X}$ ), ошибку среднего арифметического ( $m$ ). Проверку на нормальность распределения проводили с помощью стандартизованных коэффициентов асимметрии и эксцесса. При несоответствии распределения нормальному закону использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Достоверными считали различия при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ .

*Компьютерное моделирование механизма фармакологического действия лекарственного вещества (Xe и He, Ne, Ar, Kr).* Оптимизация геометрии и расчёт термодинамических характеристик рассматриваемых модельных систем выполнен с использованием программного пакета Gaussian'09 (вычислительный кластер СКИФ 'Cyberia' НИ ТГУ) методом теории функционала плотности с использованием гибридного функционала B3LYP и валентно-расщеплённого базисного набора lanl2dz, который содержит псевдопотенциалы для тяжелых атомов, учитывающие релятивистские эффекты. Все расчёты были проведены как в газовой фазе, так и с учетом сольватации в водной среде методом PCM (IEFPCM), который используется в программе Gaussian'09 по умолчанию.

**В третьей главе** диссертации представлены результаты проведённых исследований и их обсуждение. Визуальные данные представлены в виде рисунков, числовые данные – в виде таблиц и графиков.

*Исследование (in vivo) ксенон-индуцированных эффектов в купировании экспериментального ОРДС при пневмонитах.* Исследование морфологических признаков и гистологических характеристик воспалительного повреждения лёгочной ткани при использованных экспериментальных моделях ОРДС не выявили существенных отличий, что подтверждает не специфичность гистологических проявлений воспалительного ответа на введение этих повреждающих агентов. В сроках достижения максимального повреждения лёгких для моделей ОРДС<sub>ап</sub> и ОРДС<sub>E.coli</sub> отмечаются лишь несущественные различия. Однако, к 24 часам в обеих моделях ОРДС определялось двухкратное снижение альвеолярной воздушности и 3-4 кратное увеличение бронхиального экссудата.

Результаты измерения величины поверхностного натяжения лаважной жидкости полученной в модели ОРДС<sub>E.coli</sub> представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Коэффициент поверхностного натяжения лаважной жидкости, мН/м.

Бидистиллированная вода	Изотонический раствор	Сурфактант интактный контроль	Сурфактант (ОРДС <sub>E.coli</sub> )	Сурфактант (ОРДС <sub>E.coli</sub> +Xe)
70,5±0,14	73,3±0,21	45,4±0,16	50,3±0,21	46,3±0,17

Коэффициент поверхностного натяжения лаважной жидкости (бронхоальвеолярный лаваж), полученной от здоровых лабораторных мышей контрольной группы, по сравнению с поверхностным натяжением бидистиллированной воды и изотонического раствора (NaCl 0,9% (масс.)) обусловлено наличием сурфактанта, который, является поверхностно активным веществом на границе раздела водной фазы и воздуха.

Видно, что при развитии пневмонита в экспериментальной группе животных, поверхностное натяжение увеличивается, что говорит о деградации функциональной плёнки сурфактанта. Действие ксенона (ингаляции Xe/O<sub>2</sub>) восстанавливает плёнку сурфактанта, о чём говорит достоверное снижение поверхностного натяжения почти до значений контроля.

Экссудация/транссудация, сопровождающая развитие воспалительного процесса при ОРДС<sub>ап</sub> и ОРДС<sub>E.coli</sub>, сказывается на водном балансе животных, что позволяет в работе анализировать такие интегративные характеристики воспаления, как изменение массы тела и массы лёгких животных в ходе экспериментального исследования (Рис. 2).

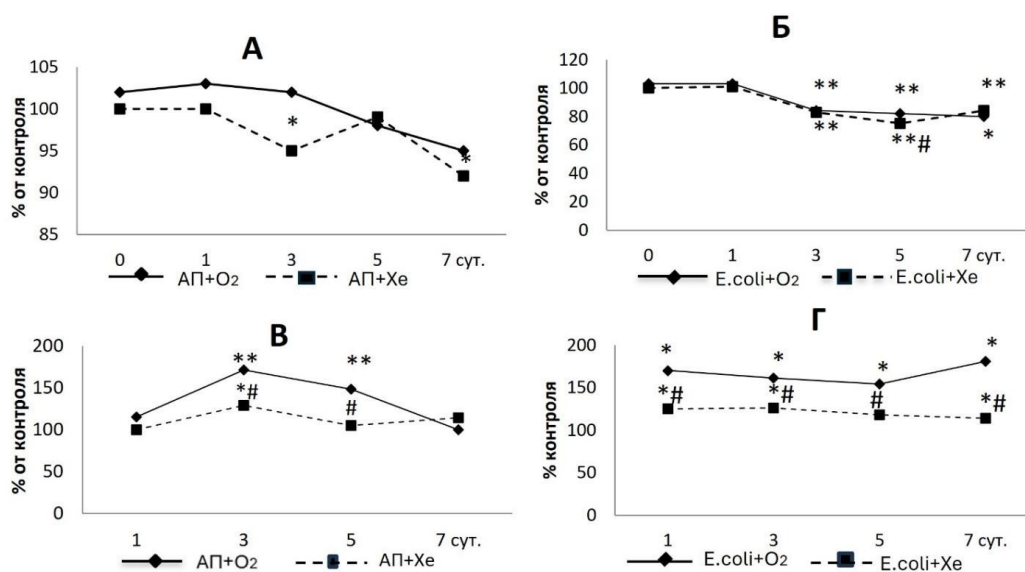


Рисунок 2 — Динамика показателей массы тела (А, Б) и массы легких (В, Г) животных на фоне развития различных моделей ОРДС

Здесь и на рисунке 3: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  по сравнению с контролем; # $p < 0.05$  по сравнению с животными получившими O<sub>2</sub>/воздушные ингаляции [Fedorova E.P., et al., 2023]

Действительно, на диаграмме «А» (рис. 2) видно, что при ОРДС<sub>ап</sub>+O<sub>2</sub> с первых по трети сутки наблюдается увеличенная масса тела и лишь к 5-7-м суткам вес животных приближается к показателям контроля. В условиях ингаляции Xe/O<sub>2</sub> смеси у животных с этой моделью ОРДС с 3-их суток регистрировалось статистически значимое снижение массы тела.

Развитие ОРДСЕ.coli (диаграмма «Б» рис. 2), в силу того, что механизм формирования синдрома для этой модели реализуется через гипериммунный ответ, характеризуется отсутствием прироста массы тела животных в первые сутки и её снижением с 3-их по 7-е сутки с максимумом в условиях ингаляции Хе/О<sub>2</sub> смеси.

Зарегистрированный феномен изменения массы тела животных в условиях развития изучаемых моделей ОРДС и при Хе/О<sub>2</sub> ингаляциях может быть объяснён нарушениями водного баланса и, в частности, накоплением интерстициальной жидкости в очагах воспаления. В этом случае наиболее показательным явился мониторинг изменения массы лёгких (по терминальным точкам исследования), как органа мишени и основного органа перспирационных потерь жидкости.

Графики «В» и «Г» (рис. 2) показывают динамику изменения массы лёгких. При ОРДС<sub>ап</sub> (график «В»), в первые сутки, как при О<sub>2</sub>/воздушной, так и при Хе/О<sub>2</sub> ингаляциях, изменения массы лёгких не выявлено, что объясняется спецификой повреждения, при котором начальные этапы воспалительного ответа наблюдается на уровне трахео-бронхиального дерева. С 3-их по 5-е сутки исследования у животных с ОРДС<sub>ап+О<sub>2</sub></sub> масса лёгких статистически значимо превышала контроль ( $p < 0,01$ ) и таковую животных с ОРДС<sub>ап+Хе</sub> ( $p < 0,05$ ), что объясняется большим количеством трансудата и, следовательно, «подтопления» альвеол в группе животных не получавших Хе/О<sub>2</sub> ингаляции. При ОРДС<sub>Е.coli</sub> (график «Г»), с 1-х суток определяется статистически значимый прирост массы лёгких в отношении контроля ( $p < 0,05$ ) для обеих групп. При этом, масса лёгких в модели ОРДС<sub>Е.coli+Хе</sub> была меньше таковой группы ОРДС<sub>Е.coli+О<sub>2</sub></sub> по всем терминальным точкам ( $p < 0,05$ ), а с 5-х по 7-е сутки не превышала результаты контроля, что свидетельствует в пользу повышения воздушности лёгких на фоне Хе/О<sub>2</sub> ингаляций.

Из результатов коагулологических исследований были выбраны данные мониторинга АТ III, как характеристики отражающей реакцию системы регуляции агрегатного состояния крови на воспалительный тромбогенный стимул при двух вариантах моделирования ОРДС.

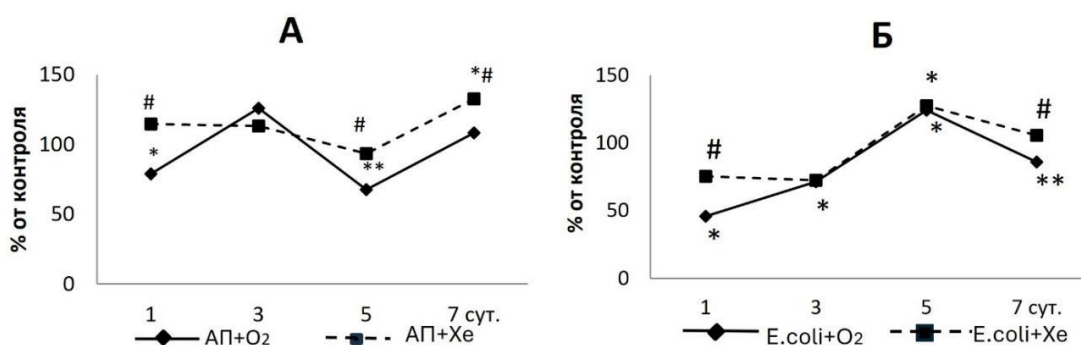


Рисунок 3 — Динамика показателя уровня АТ III на фоне развития ОРДС<sub>ап</sub> (А) и ОРДС<sub>Е.coli</sub> (Б) в исследуемых группах. [Fedorova E.P., et al., 2023]

На графике «А» (рис. 3) представлены результаты мониторинга уровня АТ III по терминальным точкам при ОРДС<sub>ап</sub>. Как видно из приведённых данных, развитие локального воспаления альвеолярно-капиллярного региона, обеспечивает активацию гемостаза в основном по внутреннему пути, что приводит к статистически значимому снижению АТ III ( $p < 0,05$ ) у животных с ОРДС<sub>ап+O<sub>2</sub></sub> по отношению к контролю и таковому животных с ОРДС<sub>ап+Xe</sub> в 1-е сутки наблюдения. На 3-и сутки, вне зависимости от вариантов ингаляции, уровень АТ III мало отличался от контрольных значений, а к 5-м опять регистрировалось его снижение для животных с ОРДС<sub>ап+O<sub>2</sub></sub> и по отношению к контролю ( $p < 0,01$ ), и по отношению к ОРДС<sub>ап+Xe</sub> ( $p < 0,05$ ). К 7-м суткам уровень АТ III у животных с ОРДС<sub>ап+O<sub>2</sub></sub> повышался до контрольных значений, а у животных с ОРДС<sub>ап+Xe</sub> статистически значимо превысил контроль ( $p < 0,05$ ).

Несколько иная картина с изменениями уровня АТ III у животных на модели ОРДС<sub>E.coli</sub> (график «В» рис. 3), где активация гемостаза реализуется в основном по внешнему пути. Так при ОРДС<sub>E.coli+O<sub>2</sub></sub> с 1-х по 3-и сутки уровень АТ III ниже контроля, а в 1-е сутки еще и статистически значимо уступает таковому животных с ОРДС<sub>E.coli+Xe</sub> ( $p < 0,05$ ). К 5-м суткам наблюдения АТ-III статистически значимо превышает контроль как при O<sub>2</sub>/воздушной, так и при Xe/O<sub>2</sub> ингаляциях ( $p < 0,05$ ). На последней точке (7-е сутки) наблюдалось статистически значимое снижение уровня АТ III у животных с ОРДС<sub>E.coli+O<sub>2</sub></sub> как в отношении контроля ( $p < 0,01$ ), так и в отношении животных с ОРДС<sub>E.coli+Xe</sub> ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, результаты экспериментов продемонстрировали выраженные позитивные эффекты Xe/O<sub>2</sub> ингаляций при формировании и развитии двух моделей пневмонитов: ОРДС<sub>ап</sub> и ОРДС<sub>E.coli</sub>. Нормализация массы тела животных и, в большей степени, массы лёгких, при моделировании пневмонитов, на фоне курса Xe/O<sub>2</sub> ингаляций более выражена. Не менее значимо при развитии моделей ОРДС и снижение тромбогенного стимула в условиях Xe/O<sub>2</sub> ингаляций, проявляющегося в характерных изменениях базового естественного антикоагулянта АТ III. Данные эффекты, практически не зависящие от вида экспериментальной модели, могут быть объяснены тем, что ингаляционное поступление в очаг воспаления Xe, обладающего иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами, снижает проявления воспалительного процесса. Xe-индуцированное расправление альвеол с восстановлением альвеолярно-капиллярного газового обмена снижает явления гипоксемии, обеспечивая прерывание порочного круга: «воспаление – гипоксия – повреждение – воспаление ...».

*Исследование (in silico) механизма ксенон-индуцированного восстановления функциональной активности ЛС.* При создании рабочей модели предполагаемого механизма взаимодействия Xe с инактивированным лёгочного сурфактантом, приводящим к восстановлению его функциональной активности, учитывался состав ЛС и физико-химические свойства Xe. Основным насыщенным фосфолипидом в составе ЛС является дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ), содержание которого достигает 80 % масс. Два ацильных радикала ДПФХ являются остатками

пальмитиновой кислоты (Рисунок 4), и именно этот фосфатидилхолин играет ключевую роль в обеспечении низких значений поверхностного натяжения в альвеолярной выстилке [Rosenberg O. A. et al, 2007].

Температура фазового перехода твердое – жидкость для бислоёв ДПФХ составляет 41,5°C, а текучесть мембран ЛС при физиологических температурах в норме обеспечивает присутствие доли ненасыщенных фосфолипидных разновидностей [Ishutsina, O.V., 2021; Perez-Gil J. et al, 2010], основным из которых является пальмитоилолеоилфосфатидилхолин (ПОФХ) с температурой плавления бислоёв -3 ° С (Рисунок 4).

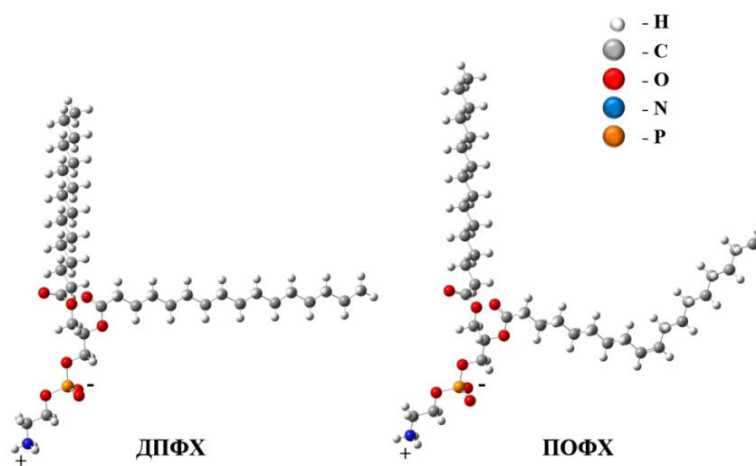


Рисунок 4— Структура ДПФХ (1,2-Dipalmitoylglycerol-3-phosphorylcholine) и ПОФХ (1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine)

Развитие ОРДС при пневмонитах приводит к образованию агрегатов нефункционального ЛС, в составе которых молекулы фосфолипидов характеризуются низкой латеральной подвижностью. Ксенон, обладая высокой липофильностью (коэффициент распределения масло/вода равен 20), должен проявлять сродство к остаткам жирных кислот ФЛ ЛС. Действительно, например в работе [Booker R.D. et al, 2013] методами молекулярной динамики показано, что атомы ксенона преимущественно локализуются в гидрофобном ядре липидных бислоёв, а экспериментальными методами дифференциальной сканирующей калориметрии показано, что ксенон снижает температуру фазового перехода мембраны гель – жидкий кристалл, увеличивая текучесть мембраны. Учитывая вышесказанное, была выдвинута гипотеза о том, что биомиметью для ксенона являются гидрофобные остатки жирных кислот основных ФЛ.

Остатки пальмитиновой и олеиновой кислот и их возможные агрегированные молекулярные системы моделировались углеводородными молекулами состава  $C_{16}H_{34}$  и  $C_{18}H_{36}$ , соответственно (Рисунок 5). Молекулы предельных углеводородов  $C_{16}H_{34}$  (системы 5, 6 и 7) образуют общие области молекулярного электростатического потенциала (МЭП), что является причиной снижения их латеральной подвижности. Включение молекул непредельных углеводородов  $C_{18}H_{36}$

(системы 8, 9 и 10) усложняют картину распределения МЭП, которое демонстрирует как образование общих областей, так и электростатические взаимодействия противоположно заряженных молекул.

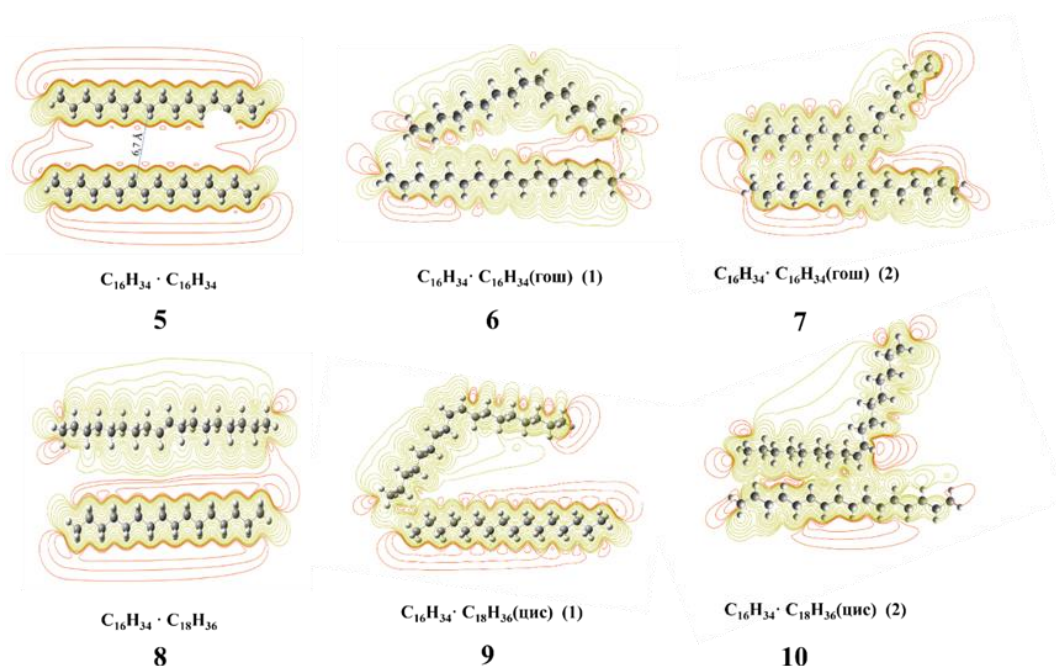


Рисунок 5 — Модельные системы агрегатов ФЛ нефункционального ЛС образованных:

- 5 - двумя молекулами алкана  $C_{16}H_{34}$  нормального строения
- 6, 7 - молекулой  $C_{16}H_{34}$  нормального строения и изомером  $C_{16}H_{34}$ (гош) с различным пространственным расположением (1) и (2)
- 8 - молекулой алкана  $C_{16}H_{34}$  и молекулой алкена  $C_{18}H_{36}$  нормального строения
- 9, 10 - молекулой алкана  $C_{16}H_{34}$  нормального строения и цис-изомером молекулы алкена  $C_{18}H_{36}$ (цис) с различным пространственным расположением (1) и (2)

Для всех систем приведены карты распределения молекулярного электростатического потенциала (МЭП) (изолинии красного цвета – отрицательный МЭП, изолинии зелёного цвета – положительный МЭП).

Общая схема процесса (Рисунок 6), состоящего из двух основных реакций, включает в себя взаимодействие Хе и соответствующей модельной молекулярной системой с образованием промежуточного комплекса (интермедиата), последующий распад которого приводит к образованию свободных углеводородных цепочек и атома Хе.

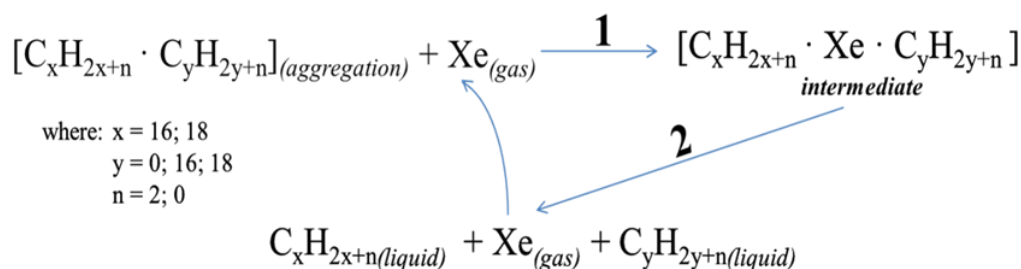


Рисунок 6 — Схема, иллюстрирующая процесс взаимодействия Хе с системами, моделирующими агрегаты ФЛ инактивированного ЛС различного состава

В таблице 2 системы 1-4 характеризуют взаимодействие Хе с отдельными цепочками ДПФХ и ПОФХ. Положительные значения  $\Delta G$  для реакции 1 как для газовой фазы, так и с учетом сольватации в водной среде, говорят о том, что с отдельными ацильными цепочками ФЛ атомарный Хе не взаимодействует.

Таблица 2 – Изменение энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) реакций взаимодействия Хе с системами, моделирующими агрегаты ФЛ инактивированного ЛС различного состава (Рисунок 6), кДж/моль

№	Модельная система	Реакция 1				Реакция 2		Реакция 1 (H2O)				Реакция 2 (H2O)	
		$\Delta G(1)$		$\Delta H(1)$		$\Delta G(2)$	$\Delta H(2)$	$\Delta G(1)$		$\Delta H(1)$		$\Delta G(2)$	$\Delta H(2)$
		Хе	Хе/O2	Хе	Хе/O2			Хе	Хе/O2	Хе	Хе/O2		
1	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	15,5	1,1	1,0	3,6			15,5	6,1	1,1	1,1		
2	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> (гош)	22,9	8,6	-1,1	1,4			15,2	-1,9	0,9	0,7		
3	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	20,5	6,1	1,8	4,4			22,4	13,0	1,8	1,8		
4	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> (цис)	18,1	2,9	1,5	3,9			17,9	8,5	1,3	1,3		
5	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	-24,0	-39,6	8,0	10,9	-36,5	-6,0	-25,6	-35,0	8,6	8,6	-35,8	-6,1
6	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> (гош) (1)	22,3	7,8	-0,3	2,2	-56,9	-3,2	18,0	8,6	-0,2	-0,2	-56,4	-3,3
7	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> (гош) (2)	18,4	4,0	1,4	3,9	-57,0	-8,9	15,3	5,9	0,2	0,4	-53,7	-4,0
8	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	-4,5	-366,3	4,0	-136,8	-38,1	-7,0	35,0	25,6	-4,4	-4,4	-68,1	-1,7
9	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> (цис) (1)	17,3	3,0	0,9	3,5	-51,3	-13,8	18,2	8,8	1,3	1,2	-53,3	-6,5
10	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ·C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> (цис) (2)	9,3	11,9	0,6	18,2	-49,4	-16,6	11,1	1,7	2,4	2,4	50,5	2,4

Это хорошо объясняет клинические наблюдения, показавшие, что у пациентов с неповреждёнными лёгкими, расход Хе не велик и наблюдаются субнаркотические эффекты, что говорит о поступлении Хе в кровь. В то время, как при вдыхании Хе/O2 газовой смеси пациентами с ОРДС расход Хе значительно увеличивается, а субнаркотические эффекты не наблюдаются, что говорит о том, что Хе в кровь не поступает, а задерживается в лёгких. Таким образом, в условиях газовой фазы, ксенон не взаимодействует с нормально функционирующим ЛС, фосфолипиды которого не агрегированы. Во всех двойных системах 5-10 суммарный энергетический эффект двух последовательных реакций образования и распада интермедиата, меньше нуля, что говорит о возможности самопроизвольного протекания такого процесса.

В присутствии молекул кислорода атом ксенона поляризуется (Рисунок 7).

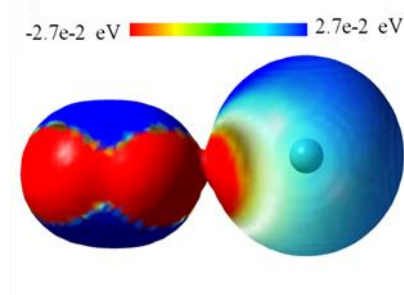


Рисунок 7 — Распределение молекулярного электростатического потенциала, картированного на поверхности общей электронной плотности молекул O<sub>2</sub> и атома Хе расположенных на расстоянии 6,9 Å

В таблице 2 видно, что присутствие кислорода снижает значения  $\Delta G(1)$  во всех случаях, что благоприятно для протекания процесса в целом. Сольватация водой ( $H_2O$ ) слабо влияет на термодинамику, очевидно по причине гидрофобности рассматриваемых молекул.

*Сравнительное исследование (in silico) сурфактант-ориентированной активности благородных газов (Ng): He, Ne, Ar, Kr и Xe.* В качестве модельной молекулярной системы агрегата фосфолипидов сурфактанта была задействована система-5 молекул предельных углеводородных нормального строения (Рисунок 5), поскольку ДПФХ является наиболее значимой биологической мишенью в рассматриваемом механизме взаимодействия. Значения изменений энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) в реакциях 1 и 2, рассчитанные для модельных систем благородных газов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Изменение энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) реакций взаимодействия Ng по схеме на Рисунке 6, кДж/моль

Ng	Реакция 1				Реакция 2			
	$\Delta G(1)$		$\Delta H(1)$		$\Delta G(2)$		$\Delta H(2)$	
	(lanl2dz)	(6-31g(d,p))	(lanl2dz)	(6-31g(d,p))	(lanl2dz)	(6-31g(d,p))	(lanl2dz)	(6-31g(d,p))
He	-	-11,9	-	6,2	-	-49,5	-	-3,7
Ne	-9,47	-2,1	3,04	-8,1	-52,27	-59,2	-0,57	10,5
Ar	-11,65	-10,6	7,41	6,1	-50,09	-50,8	-4,94	-3,7
Kr	-7,1	-8,9	6,1	-0,5	-54,6	-52,4	-3,7	3,0
Xe	-24,0	-	8,0	-	-36,5	-	-6,0	-

С использованием базисного набора lanl2dz невозможно рассчитать термодинамические параметры для лёгкого элемента гелия (He), а с базисным набором 6-31g(d,p) параметры тяжёлого элемента ксенона (Xe). Однако оба базиса можно использовать для расчёта термодинамических параметров неона, аргона и криптона, что и позволяет провести сравнительный анализ активности всех газов. Из данных, приведённых в таблице 4 видно, что метод расчёта меньше влияет на результаты для аргона и криптона, но не для неона (см.  $\Delta G(1)$ ).

Результаты расчёта  $\Delta G$ , с использованием базисного набора lanl2dz, показывают, что все Ng образуют интермедиаты с молекулярной системой, моделирующей агрегаты инактивированного сурфактанта по Реакции 1. При этом, максимальным значением  $\Delta G(1)$  характеризуется Xe. Соответствующие параметры Kr, Ar и Ne близки друг другу и приблизительно в два раза меньше, чем у ксенона. В реакции распада интермедиата (Реакция 2) значения  $\Delta G(2)$  для Kr, Ar и Ne наоборот выше, чем у ксенона. Это говорит о том, что Xe должен активнее взаимодействовать с агрегатами фосфолипидов чем Kr, Ar и Ne, при этом будет образовываться более устойчивый промежуточный комплекс.

Результаты расчёта  $\Delta G$ , с использованием базисного набора 6-31g(d,p), показывают, что также все Ng образуют интермедиаты по Реакции 1, которые затем

распадаются по реакции 2. При этом значения  $\Delta G(1)(2)$  для Kr, Ar и He близки друг другу, что позволяет сделать вывод о том, что как и активности Kr и Ar, активность He будет меньше, чем активность Xe.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе, в *in vivo* исследовании на двух моделях пневмонита установлено, что основным фармакологическим эффектом ингаляционного поступления ксенона является реабилитация функциональной активности лёгочного сурфактанта за счёт восстановления его плёнообразующей способности, а коэффициент поверхностного натяжения лаважной жидкости может выступать критерием оценки функционального состояния лёгочного сурфактанта. Кроме того, коагулологические исследования уровня АТ-III указывают на положительное влияние ксенона на гемостаз.

В *in silico* исследовании показано, что основой механизма реализации фармакологической активности ингаляционного поступления ксенона при ОРДС является его взаимодействие с липофильной частью инактивированного лёгочного сурфактанта, агрегированного в экссудате и/или на поверхности эпителиальной выстилки альвеол, что приводит к восстановлению латеральной подвижности молекул фосфолипидов, обуславливающих функциональную активность плёнок сурфактанта. Такой механизм коррелирует с липоидной теорией анестезии и объясняет снижение спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов изменениями мембранных структур, которые возникают при накоплении ксенона в билипидном слое мембран тромбоцитов.

### ВЫВОДЫ

1. Бронхо-альвеолярная лаважная жидкость от животных с моделированным пневмонитом (модель ОРДС<sub>E.coli</sub>), по отношению к контролю имеет высокий коэффициент поверхностного натяжения ( $50,3 \pm 0,21$ ), смещающийся к аналогичному 0,9% раствора NaCl ( $73,3 \pm 0,21$ ). Ингаляционное поступление Xe в составе Xe/O<sub>2</sub> газовой смеси обеспечивает снижение коэффициента поверхностного натяжения лаважной жидкости ( $46,3 \pm 0,17$ ) до значений контроля ( $45,4 \pm 0,16$ ).

2. Моделирование пневмонитов интратрахеальным введением ЛПС (модель ОРДС<sub>E.coli</sub>), либо ацидин-пепсина (модель ОРДС<sub>ап</sub>) приводило к увеличению поверхностного натяжения бронхо-альвеолярного лаважа. При этом, на фоне признаков воспаления (повышение температуры тела, снижение альвеолярной воздушности, увеличение бронхиального экссудата, тромбозов и геморрагий в тканях лёгких), имел место статистически значимый прирост массы лёгких ( $p < 0,01$ ) за счёт «затопления» альвеол.

3. Ингаляционное введение Xe в составе Xe/O<sub>2</sub> газовой смеси в соотношении 30%/70% в течении 20 минут ежедневно на моделях пневмонитов, вызванных интратрахеальным введением ЛПС, либо ацидин-пепсина, обеспечивало снижение выраженности воспалительного ответа с 1-х суток. К 5-ым суткам

наблюдения/лечения у животных, получавших Хе, в отличие от контроля купировались мониторируемые признаки воспаления.

4. Оптимизация геометрии молекулярных систем, моделирующих остатки жирных кислот наиболее распространённых фосфолипидов лёгочного сурфактанта (дипальмитоилфосфатидилхолин, олеилдипальмитоилфосфатидилхолин), образованных предельными и непредельными углеводородами состава  $C_{16}H_{34}$  и  $C_{18}H_{38}$ , показывает, что при их максимальном сближении (6-7 Å) происходит образование общих областей отрицательного МЭП, что объясняет потерю латеральной подвижности молекул и образование агрегатов лёгочного сурфактанта.

5. По результатам ТФП-расчётов термодимических параметров реакций, моделирующих поведение Хе в среде инактивированного сурфактанта, его первичной мишенью выступают агрегированные представители остатков жирных кислот, прежде всего предельных фосфолипидов (дипальмитоилфосфатидилхолин).

6. Образование и последующий распад интермедиатов Хе и агрегированных остатков жирных кислот протекает самопроизвольно, о чём говорят отрицательные значения изменения энергии Гиббса (порядка – 60(50) кДж/моль), рассчитанные для температуры 310 К.

7. Распад промежуточного комплекса Хе с агрегированными остатками жирных кислот фосфолипидов неактивного лёгочного сурфактанта приводит к разрушению агрегатов, обеспечивая восстановление латеральной подвижности молекул фосфолипидов, что соответствует механизму реабилитации функционально активной плёнки лёгочного сурфактанта, а освободившийся Хе может повторно вступать во взаимодействие с агрегатами лёгочного сурфактанта.

8. Результаты ТФП-расчётов термодимических параметров модельных процессов для Хе/ $O_2$  газовой смеси демонстрируют усиление эффекта взаимодействия Хе и первичной мишени - агрегированных фосфолипидов ЛС в присутствии молекул  $O_2$ , благодаря их поляризующему действию на его атомы.

9. По результатам компьютерного моделирования такие инертные газы, как Не, Ne, Ar и Kr могут взаимодействовать с агрегированными фосфолипидами по предложенному механизму, однако рассчитанные термодимические параметры свидетельствуют в пользу 'большой эффективности Хе.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Udut, V.V. A case of xenon inhalation therapy for respiratory Failure and neuropsychiatric disorders Associated ith covid-19 / V.V. Udut, S.A. Naumov, **D.N. Evtushenko**, E.V. Udut, S.S. Naumov, G.N. Zyuz'kov // EXCLI Journal. – 2021. – Vol. 28(20). – P. 1517–1525.
2. Удут, В.В. Механизмы эффектов кратковременных ингаляций Хе/ $O_2$  газовой смеси в реабилитации постковидной вентиляционной недостаточности / В.В. Удут, С.А. Наумов, Е.В. Удут, С.С. Наумов, **Д.Н. Евтушенко**, О.Н. Чумакова, Г.Н. Зюзьков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 9. – С. 362-

366. (в переводной версии журнала: Udut, V.V. Mechanisms of the Effects of Short-Term Inhalations of Xe and O<sub>2</sub> Gas Mixture in the rehabilitation of Post-COVID Ventilation Failure / V.V. Udut, S.A. Naumov, E.V. Udut, S.S. Naumov, D.N. Evtushenko [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2022. – Vol. 172, N 3. – P. 364-367).

3. Федорова, Е.П. Ксенон-индуцированные эффекты в купировании экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома / М.В. Филонова, А.А. Чурин, С.А. Наумов, П.Е. Никифоров, Л.А. Сандрикина, **Д.Н. Евтушенко**, Е.В. Удут, О.С. Попов, С.С. Наумов, Т.И. Фомина, В.В. Удут // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т.174, № 11. – С. 560-564 (в переводной версии журнала: Fedorova E.P. Xenon-Induced Effects in Relieving Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome / E.P. Fedorova, M.V. Filonova, A.A. Churin, S.A. Naumov, P.E. Nikiforov, L.A. Sandrikina., D.N. Evtushenko [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2023. – Vol. 174, N 5. – P. 605-609).

4. **Евтушенко, Д.Н.** Индуцированное ксеноном восстановление функциональной активности лёгочного сурфактанта (in silico исследование) / **Д.Н. Евтушенко**, А.В. Фатеев, С.А. Наумов, Е.В. Удут, С.С. Наумов, В.В. Удут // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2023. – Т. 3. – С. 176-183 (в переводной версии журнала: Evtushenko D.N. Xenon-Induced Recovery of Functional Activity of Pulmonary Surfactant (In Silico Study) / **D.N. Evtushenko**, A.V. Fateev, S.A. Naumov, E.V. Udut [et al.]// Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2023. – Vol. 176, N 2. – P. 260-267).

5. **Евтушенко, Д.Н.** Ксенон-индуцированное восстановление функциональной активности легочного сурфактанта (in silico исследование) / **Д.Н. Евтушенко**, А.В. Фатеев, С.А. Наумов, Е.В. Удут, С.С. Наумов, В.В. Удут // Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии. МОБИ-ХимФарма: сборник тезисов докладов Восьмой Междисциплинарной конференции 24-27 апреля 2023 Санкт-Петербург / Под. Ред. К.В. Кудрявцева и Е.М. Паниной. – М.: «Перо», 2023. – С.192. ISBN 978-5-00218-187-2

6. **Евтушенко, Д.Н.** Регенерация функциональной активности лёгочного сурфактанта под действием ксенона (in silico исследование) / **Д.Н. Евтушенко**, С.А. Наумов, Е.В. Удут, С.С. Наумов, В.В. Удут // Фармакологические подходы в регенеративной медицине: материалы Всероссийской научной конференции, посвящённой 40-летию НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга, г.Томск 7-10 октября 2024 г. / отв. ред. Г.Н. Зюзьков. – Томск: Издательство Томского государственного университета, 2024. – С. 33-35. ISBN 978-5-907890-03-9

7. Евтушенко, Д.Н. Взаимодействие ксенона с фосфолипидами лёгочного сурфактанта при пневмонитах / **Д.Н. Евтушенко**, В.В. Удут // Химия и химическое образование = Chemistry and chemical education: сборник материалов IX

Международный симпозиум, Владивосток, 30 сентября – 3 октября 2024 г. / науч. ред.: В.И. Сергиенко, И.Г. Тананаев, Е.К. Папынов ; редкол.: С.Б. Ярусова, А.Н. Драньков, И.Ю. Буравлев, О.О. Шичалин, А.А. Белов, Н.П. Иванов.– Владивосток : Издательство Дальневосточного федерального университета, 2024. – С. 206-207. ISBN 978-5-7444-5802-7.

8. Удут, В.В. Противотромботическая коррекция нарушений альвеолярно-капиллярного бассейна легких в превенции диффузионной недостаточности при вирусных пневмонитах / В.В. Удут, **Д.Н. Евтушенко** // X Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием по физиологии и патологии системы гемостаза «Баркагановские чтения», к 100-летию со дня рождения профессора З.С. Баркагана, Барнаул, 24-25 апреля 2025 г.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Хе — ксенон

ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром

ЛС — лёгочный сурфактант

$pO_2$  — сатурация крови

НПР — нервно-психические расстройства

АДФ — аденозиндифосфат

ФЛ — фосфолипиды

ДПФХ — дипальмитоилфосфотидилхолин

ОПФХ — олеил-пальмитоилфосфотидилхолин

ЛПС — липополисахарид

АП — ацидин-пепсин

АТ-III — антитромбин

pNA — паранитроанилин

NMDA — рецептор N-метил-D-аспартата

ТФП — теория функционала плотности

МЭП — молекулярный электростатический потенциал

$\Delta G$  — изменение энергии Гиббса

$\Delta H$  — изменение энтальпии

Ng — благородные газы

He — гелий

Ne — неон

Ar — аргон

Kr — криптон