

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И  
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ Е.Д. ГОЛЬДБЕРГА

На правах рукописи

Евтушенко Диана Николаевна

СУРФАКТАНТ-ОРИЕНТИРОВАННЫЕ ЭФФЕКТЫ  $\text{Xe}/\text{O}_2$  ИНГАЛЯЦИЙ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИТАХ  
(*in vivo et in silico* исследование)

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
Заслуженный деятель науки РФ,  
д.м.н., проф., член-корр. РАН,  
Удуд Владимир Васильевич

Томск – 2026

## Оглавление

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>14</b>
1.1 Вирусный пневмонит .....	14
1.2. Фармакологическое лечение .....	16
1.3 Лёгочный сурфактант.....	17
1.3.1 Клетки альвеолярного эпителия .....	17
1.3.2 Строение лёгочного сурфактанта .....	20
1.3.3 Препараты легочного сурфактанта.....	29
1.4 Применение медицинских газов .....	33
1.4.1. Клинический случай .....	33
1.4.2. Ксенон и его соединения .....	38
1.4.2. Ксенон в медицине.....	39
1.4.3 Современные представления о механизмах действия ксенона на организм.....	44
1.4.4 Теоретические (in silico) исследования применения ксенона в биологии и медицине .....	47
1.4.5 Применение других инертных газов в медицине .....	59
<b>2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ДЕТАЛИ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИХ РАСЧЁТОВ.....</b>	<b>61</b>
2.1 Методы моделирования ОРДС при пневмонитах .....	61
2.1.1 Методы моделирования патологических процессов с использованием бактериального липополисахарида. ....	61
2.1.2 Методы моделирования патологических процессов с использованием ацидин-пепсина.....	66
2.1.3 Методика эксперимента моделирования ОРДС при пневмонитах .....	67
2.2 Метод ингаляционного введения Xe в составе Xe/O <sub>2</sub> газовой смеси.....	68
2.3 Метод определения коэффициента поверхностного натяжения лаважной жидкости.....	69
2.4 Метод гистологического исследования.....	70
2.5 Измерение (мониторирование) массы .....	71
2.6 Метод коагулологического исследования (определение уровня АТ-III) .....	71
2.7 Методы статистической обработки результатов .....	71
2.9 Компьютерное моделирование механизма фармакологического действия лекарственного вещества (Xe и He, Ne, Ar, Kr) .....	72
2.9.1 Методики оптимизации геометрии структур и расчёт термодинамических параметров реакций.....	72

2.9.2 Проверка применимости выбранной расчётной схемы.....	72
2.9.3 Молекулярный электростатический потенциал.....	75
<b>3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>	<b>76</b>
3.1 Исследование ( <i>in vivo</i> ) ксенон-индуцированных эффектов в купировании экспериментального ОРДС при пневмонитах. ....	76
3.2 Исследование ( <i>in silico</i> ) механизма ксенон-индуцированного восстановления функциональной активности ЛС.....	80
3.3 Сравнительное исследование ( <i>in silico</i> ) сурфактант-ориентированной активности благородных газов: He, Ne, Ar, Kr и Xe .....	92
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>95</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>96</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ.....</b>	<b>98</b>
1. Ингаляционный аппарат САКИ-стационарный (ООО «Научная корпорация «Биогазсервис», Россия).....	98
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>99</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>100</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность 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 [36, 53, 74, 94, 95, 120, 126, 139].

Закономерно, что в их профилактике основной акцент делается на разработке вакцин, формирующих в организме надёжный иммунный ответ [2-4]. Однако, применительно к COVID-19, высокая генетическая изменчивость SARS-CoV-2 [46], несовершенство вакцинного иммунитета [128], а также множество пока ещё неизвестных факторов патогенеза COVID-19 по-прежнему препятствуют достижению его адекватного популяционного уровня [82]. 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 [95].

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 легкого 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 [122, 135, 136, 137]. При этом тяжесть заболевания зачастую определяется выраженностью развивающегося острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [135].

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 [56, 102, 152]. Клиническим подтверждением этого выступают данные компьютерной томографии (периферические субплевральные легочные затемнения по типу матового стекла) [129] 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 [131]. Ну и, конечно же, имеют место значимые снижения сатурации  $pO_2$  крови [150], 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 [71, 76, 119, 134].

При объяснении причин возникновения осложнений по типу вентиляционной недостаточности, следует подчеркнуть ведущую роль нарушений микромеханики легочных альвеол, напрямую связанных или даже определяющихся изменениями структуры и функции лёгочного сурфактанта (ЛС) [132]. Действительно, воспалительный процесс в терминальных отделах лёгочной ткани, развивающийся по типу острого, либо подострого респираторного дистресс-синдрома приводит к выраженным изменениям архитектоники лёгочного сурфактанта, исключая его способность обеспечения низкого поверхностного натяжения, что выступает причиной «схлопывания» альвеол [31, 132, 145] со всеми вытекающими негативными последствиями.

С учётом строения лёгочного сурфактанта и ведущей роли его фосфолипидов (ФЛ) 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 легких и изучение вариантов неспецифической профилактики 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 [108, 131]. Позиционируется практически близким к вариантам этиотропной терапии ингаляционное применение высокотемпературной смеси  $He$  и  $O_2$ , где, без объяснения механизмов (отмечается лишь необходимое условие - термочувствительность инфекционных возбудителей), приводится широкий спектр позитивных эффектов в конечном итоге обеспечивающих быстрое выздоровление [26, 29].

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 [127, 130]. Для терапевтических мероприятий периода реабилитации в основном используются такие подходы как лечебная дыхательная гимнастика, физиотерапевтические процедуры [42, 119].

Принципиально важными для предлагаемого исследования являются постковидные нервно-психические расстройства (НПР), такие как депрессия, тревожные расстройства, бессонница и др. [57,121]. Перечисленные осложнения не случайны и формируются, как результат прямых повреждений нервной ткани SARS-CoV-2 [91, 133] 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 используются различные методы коррекции острых стрессовых состояний, а также осложнений и хронических расстройств, которые заключаются в использовании ксенона в составе  $\text{Xe}/\text{O}_2$  газовой смеси (Медицинская технология №ФС 2010/227 от 17.06.2010г. «Способ коррекции острых и хронических стрессовых расстройств на основе ингаляции терапевтических доз ХеМед») [73, 99, 162, 163].

Ключевой предпосылкой выполнения данного исследования явились результаты клинических наблюдений в которых была подтверждена высокая эффективность кратковременных ингаляций  $\text{Xe}/\text{O}_2$  газовой смеси в отношении купирования дыхательной/вентиляционной недостаточности у пациентов, перенёвших COVID-19 [44]. Действительно, ненаступление субнаркотических эффектов при ингаляции  $\text{Xe}/\text{O}_2$  дыхательной смеси сопровождалось купированием явлений дыхательной недостаточности и выраженным

повышением  $pO_2$  крови, что, вкупе с известными данными о высокой липофильности ксенона, позволило предположить его взаимодействие с доступными для контакта липидами лёгких и, в частности, с лёгочным сурфактантом.

Таким образом, как видно из представленных данных, 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  $t^0$  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<sub>2</sub> на атомарный Хе в ингаляционной Хе/O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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 t<sup>0</sup> 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/О<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°С) 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/О<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/О<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 пленкообразующей 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; 3 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 проведен 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.

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Вирусный пневмонит

Хорошо известно, что вирусные инфекции могут быть причиной многочисленных системных нарушений организма. В последние годы вирусные инфекции характеризуются выраженной пневмотропностью, что приводит к развитию пневмонитов. Вирус-ассоциированные пневмонии характеризуются тяжёлым течением и высокой смертностью, что в полной мере относится и к новой коронавирусной инфекции COVID-19. Вирусные пневмонии отличаются как по клиническим, так и по рентгенологическим проявлениям. По данным многочисленных исследований, у пациентов с вирус-ассоциированной пневмонией часто развивается острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [159]. Кроме проявления системного воспаления, характерным признаком коронавирусной инфекции COVID-19 является быстрое развитие тромбозов. Такого рода осложнения приводят к поражению не только магистральных сосудов, но и систем микроциркуляции крови. Большой процент летальных исходов у больных с COVID-19 был обусловлен именно этим осложнением [58].

Как известно, в основе патогенеза таких инфекционных заболеваний как COVID-19 лежит реакция собственной иммунной системы человека. Например, в публикации 2020 года в журнале «Клиническая фармакология и терапия» мы читаем, что «При заражении клетки SARS-CoV-2, РНК вируса реплицируется с помощью вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы. Полученное потомство вирионов выходит из заражённой клетки почкованием, образуя новые оболочки за счёт мембраны клетки хозяина. То есть SARS-CoV-2 заражает и захватывает клетки хозяина, но, в отличие от безоболочечных вирусов, не лизирует клетки и прямого повреждающего действия на инфицированные клетки не оказывает. Само же поражение лёгких связано с иммунной системой человека, которая атакует и убивает инфицированные вирусом клетки альвеолярного эпителия.» [159]. Вирус SARS-CoV-2

проникает в клетки альвеолоцитов путем прикрепления к рецепторам ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2). Структура белка, ответственного за проникновение коронавируса в клетку и механизм его связывания с рецептором клеточной мембраны была определена в 2020 году [141] на источнике синхротронного излучения SSRF (КНР). На Рисунке 1 представлен фрагмент S-белка, ответственного за проникновение коронавируса в клетку (слева), а также механизм связывания белка с ангиотензинпревращающим ферментом hACE2 клеточной мембраны человека (справа) [28].

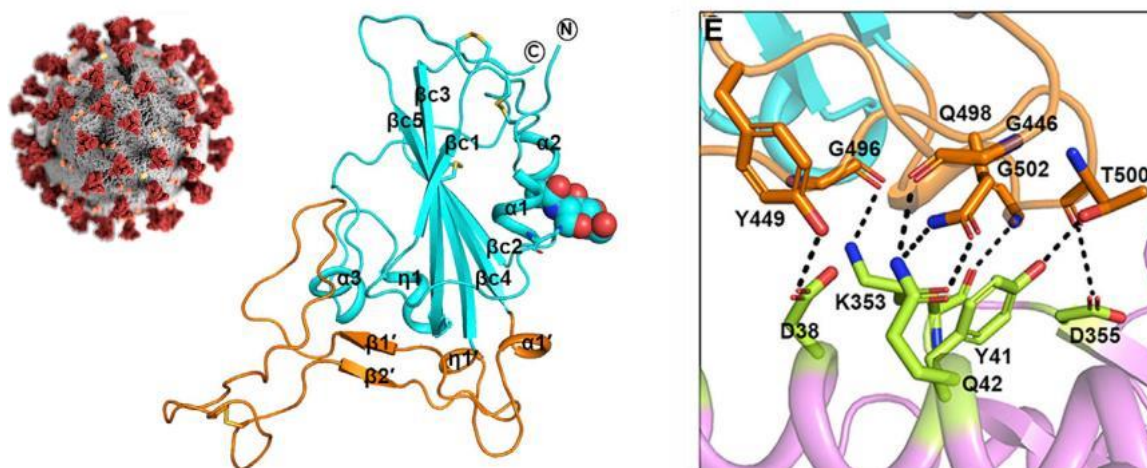


Рисунок 1 – Фрагмент S-белка и механизм его связывания с ангиотензинпревращающим ферментом hACE2 клеточной мембраны человека [адаптировано из 28]

Способ повреждения может быть прямым или непрямым. При прямом повреждении лёгких возбудитель непосредственно поражает структуры лёгких, что приводит к выраженной эпителиальной дисфункции, инфильтрации нейтрофилов, образованию гиалиновых мембран, отложению фибрина и отеку. При непрямом повреждении лёгких эндотелиальное или сосудистое повреждение происходит с меньшим рекрутированием нейтрофилов. Инфильтрация нейтрофилов активирует и высвобождает токсические медиаторы, такие как активные формы кислорода и оксид азота. Молекулы этих веществ повреждают эпителий альвеол и эндотелий

капилляров, что приводит к увеличению проницаемости, позволяя богатой белком жидкости и клеткам крови перемещаться в интерстиций и альвеолы. Кроме того, высвобождаются тромбогенные энзимы, что приводит к образованию микротромбов. Каскадное развитие патологических процессов такого рода приводит к тяжёлому поражению лёгких, фатальным конечным результатом которого является острый респираторный дистресс-синдром. Такие факторы, как возраст, пол, генетика, внешние факторы, хронические заболевания лёгких и сопутствующие заболевания повышают риск развития ОРДС [14, 35].

## **1.2 Фармакологическое лечение**

Несмотря на значительный прогресс в понимании патофизиологии ОРДС и обширные исследования как в доклинических, так и в клинических условиях, эффективность доступных терапевтических методов остаётся недостаточной, а смертность - неприемлемо высокой. Многие фармакологические агенты, включая кортикостероиды, статины, бета-агонисты, нестероидные противовоспалительные препараты, антиоксиданты, экзогенный сурфактант, ингибиторы нейтрофильной эластазы, антикоагулянты, анти-ФНО, биологические препараты, оксид азота и лизофилин, были исследованы у пациентов с ОРДС, но ни один из этих фармакологических агентов не снижали смертность [35].

О механизме развития ОРДС, причиной которого являются вирусные пневмониты, вызванные коронавирусом SARS-CoV-2 известно, что после проникновения вирус в организм SARS-CoV-2 разрушает альвеолярные клетки типа II, которые являются местом синтеза лёгочных сурфактантов (ЛС), что приводит к снижению продукции ЛС. Снижение продукции сурфактанта вызывает ателектаз альвеол и снижение растяжимости лёгких. У пациентов с COVID-19 наблюдаются клинические симптомы, очень похожие на симптомы, респираторного дистресс синдрома новорожденных РДСН [34, 43], основной причиной которых является дефицит ЛС. Сообщается, что

снижение концентрации ЛС, изменённый состав ЛС и мутации в ЛС являются критическими факторами смертности от COVID-19 [161]. Эти и другие данные [103, 114] послужили мотивом для клинических исследований эффективности применения препаратов экзогенных ЛС у пациентов с COVID-19 [151]. Однако, в настоящее время нет эффективного средства лечения или предупреждения ОРДС, что требует продолжения исследований в этой области, в т. ч. на экспериментальных моделях пневмонитов.

### **1.3 Лёгочный сурфактант**

#### ***1.3.1 Клетки альвеолярного эпителия***

ЛС выстилает альвеолы и терминальные бронхиолы, тем самым защищая легкие от ателектазов [78]. ЛС синтезируется в клетках альвеолярного эпителия II типа, хранится в пластинчатых тельцах и секретруется путем экзоцитоза в просвет альвеол. Схематическое изображение клетки альвеолярного эпителия II типа, также называемой альвеолоцит или пневмоцита, приведено на Рисунке 2 [101].

Клетки пневмоцитов II типа высотой до  $1,2 \cdot 10^{-3}$  см с объемом порядка  $9 \cdot 10^{-10}$  см<sup>3</sup> имеют кубическую или призматическую форму. На поверхности альвеол они занимают не более 4-10% и, соответственно, на клетки пневмоцитов I типа приходится до 90-96% поверхности. Обычно пневмоциты II типа размещаются в углублениях альвеолярной выстилки альвеол или в местах соприкосновения нескольких альвеолярных пузырьков и, таким образом, могут выступать в просветы одновременно двух или трёх альвеол.

Пневмоциты II или секреторные пневмоциты контактируют с пневмоцитами I типа и макрофагами. Пневмоциты II типа активно пролиферируют. У входа в альвеолу секреторные пневмоциты могут располагаться в виде групп из нескольких клеток. В таких случаях, взаимодействия между клетками осуществляются посредством плотных контактов [85].

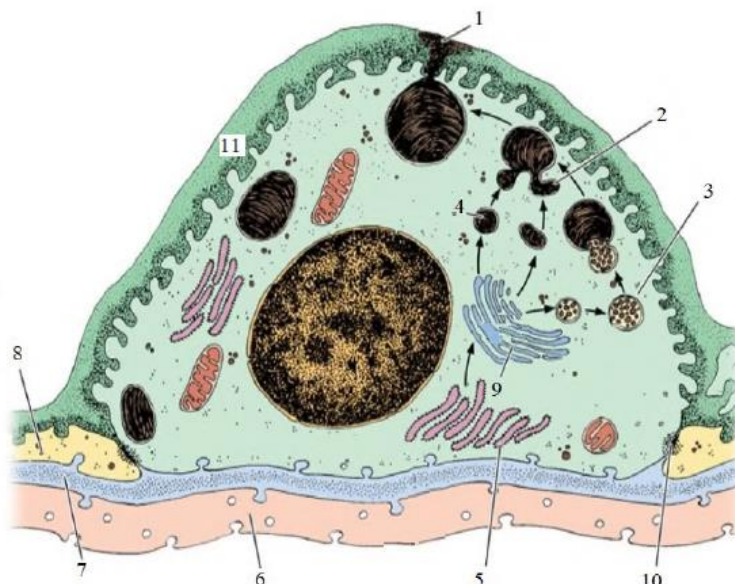


Рисунок 2 – Схема строения пневмоцита II типа: 1- секреция сурфактанта; 2 – формирование сложного тельца; 3- формирования МВТ; 4 – формирование липидов ОПТ; 5 – гранулярная ЭПС; 6 – эндотелий капилляра; 7 – базальная мембрана; 8 – пневмоцит 1-ого типа; 9 – комплекс Гольджи; 10 – замыкающий контакт; 11 – слой сурфактанта [адаптировано из 101]

Альвеолоциты II имеют неровную апикальную поверхность овальной или полигональной формы, содержащую большое количество микроворсинок и гликофинголипидов. На апикальной поверхности клеток во время секреции наблюдается появление множества глобулярных образований (впадин и выпячиваний), свидетельствующих о высвобождении на поверхность альвеолы секретируемых веществ. На базальной мембране расположена широкая поверхность секреторных пневмоцитов. Известно, что для базолатеральных областей этих клеток характерны довольно высокие концентрации катионов натрия, калия, а также АТФазы. В цитоплазме пневмоцитов II типа обнаруживаются гликопротеин 330 кДа, щелочная фосфатаза, гликозилированные молекулы, опухолевый антиген – цитокератин-19 и др [85].

Клетки пневмоцитов II типа могут быть как одноядерными, так и двоядерными. Поскольку, функциональный потенциал полиплоидных клеток выше, то их относительное количество возрастает при необходимости

компенсировать различные нарушения, возникающие, например, в результате резекции или хронического антракоза. Ядра одноядерных клеток с диаметром от 4 до 5 мкм располагаются в центральных областях и занимают до 40% клетки, при этом имеют овальную, сферическую или неправильную форму. В ядрах хроматин, как правило, распределён равномерно. Однако, иногда наблюдаются небольшие скопления хроматина у ядерных мембран [85]. О высокой метаболической активности клеток альвеолоцитов II типа, говорит наличие хорошо развитой гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети (ЭПС), присутствие рибосом и полирибосом, а также рассредоточенные по всей цитоплазме митохондрии с электронноплотным матриксом и микротельца, содержащие пероксидазу. Гидролитические ферменты накапливаются в секреторных включениях, поскольку лизосомы в секреторных пневмоцитах отсутствуют. Секреторные включения подразделяются на мультивезикулярные тельца (МВТ), сложные тельца, осмиофильные пластинчатые тельца (ОПТ) или цитофосфолипосомы. Обычно, ОПТ либо равномерно распределяются по всей цитоплазме альвеолоцита, либо незначительно концентрируются в надъяденной апикальной области клетки. В структуре секреторных включений отражается процесс синтеза и созревания сурфактанта. Синтез компонентов сурфактанта (белков, углеводов, липидов) осуществляется независимо друг от друга, а их секреция происходит одновременно и синхронно [85].

В первом приближении, в структуре лёгочного сурфактанта на эпителиальной поверхности альвеол выделяют две основных фазы. Первая составляющая – это апофаза с толщиной 8-10 нм. Апофаза представляет собой мономолекулярный слой фосфолипидов, гидрофобная часть молекул которых обращена в сторону воздушного объёма альвеол непосредственно на границе раздела «воздух – жидкость». Вторая фаза или гипофаза – это сложный комплекс, состоящий из тубулярного миелина (ТМ), липогликопротеидов, липопротеинов, липидов, ОПТ и их фрагментов, молекул полисахаридов, альвеолярных макрофагов и др. Гипофаза образует слой толщиной от 0,2 до

5,0 мкм, который заполняет углубления эпителиальной выстилки, сглаживая внутреннюю поверхность альвеол. Мембраны ТМ состоят из двух плотных осмиофильных слоев толщиной по 2,7 нм, разделенных промежутком в 2,2 нм. В свою очередь, тубулярный миелин образует мембраны, которые пересекая друг друга, формируют решётчатую структуру. Со структурами, образованными ТМ, связаны альбумин и иммуноглобулины [85].

Между апофазой и гипофазой постоянно поддерживается динамическое равновесие и происходит постоянный обмен компонентов сурфактанта, что обеспечивает его обновление, а также определяет функционирование альвеол и сохранение их гомеостаза. В тубулах ТМ находится резервный сурфактант, который раскручивается в мономолекулярный слой и переходит на границу раздела «воздух – жидкость». Чем выше концентрация фосфолипидов в поверхностном монослое апофазы, тем ниже поверхностное натяжение и тем меньше энергии необходимо для раскрытия альвеол на вдохе и предотвращения их схлопывания на выдохе. Таким образом, нормальное функционирование ЛС поддерживается и регулируется процессами синтеза и секреции компонентов сурфактанта в гипофазу, формированием межфазного монослоя в апофазе, а также переработкой и утилизацией сурфактанта альвеолярными макрофагами [85].

### ***1.3.2 Строение лёгочного сурфактанта***

ЛС представляет собой сложную смесь, включающую 90% липидов и 10% белков поверхностно-активных веществ по весу. Липиды состоят из ДПФХ (36%), ненасыщенного фосфатидилхолина (РС; 32%), фосфатидилглицерина (РG; 8%), холестерина (7%), других фосфолипидов (РL; 4%) и других нейтральных липидов (NL; 3). %. Белки сурфактанта состоят из белка плазмы (3%), белка сурфактанта SP-A (5%), SP-B (0,7%), SP-C (0,8%) и SP-D (0,5%), как показано на рисунке 3 [151].

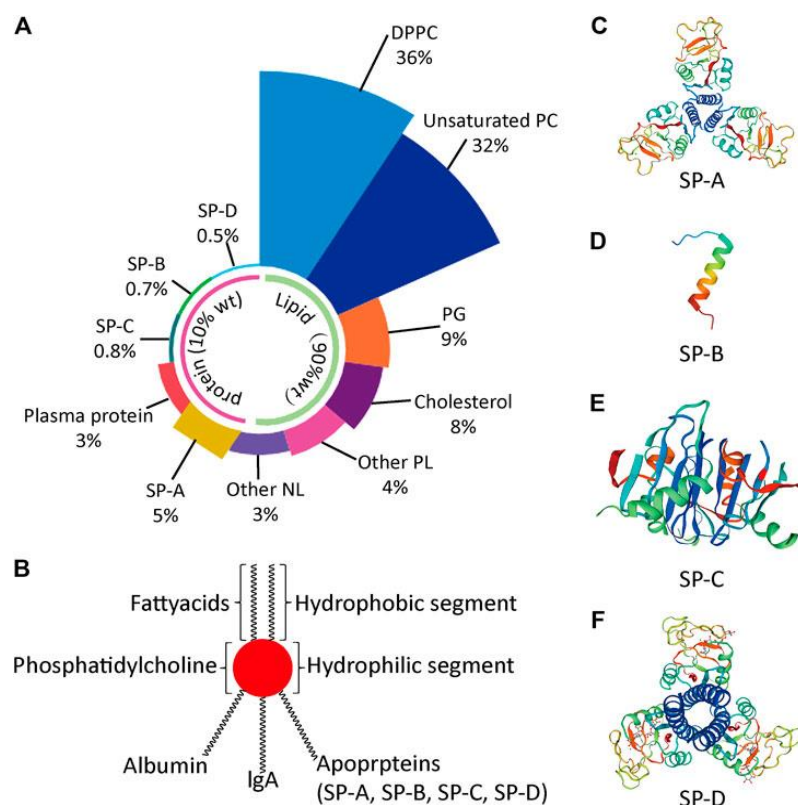


Рисунок 3 – (А) Состав лёгочного сурфактанта (ЛС); (В) Относительное содержание различных компонентов в ЛС. Репрезентативная структура ЛС; (С) Молекулярная структура белка SP-A; (D) Молекулярная структура белка SP-B; (E) Молекулярная структура белка SP-C; (F) Молекулярная структура белка SP-D; DPPC (ДПФХ) - дипальмитоилфосфатидилхолин; NL - нейтральный липид; PC (ФХ) - фосфатидилхолин; PG (ФГ) - фосфатидилглицерин; PL (ФЛ) - фосфолипид; SP (САБ) сурфактант-ассоциированные белки [адаптировано из 151]

Липиды ЛС образуют монослой на границе воздух-жидкость, снижают поверхностное натяжение до минимума  $<10$  мН/м и, таким образом, предотвращают коллапс альвеол и поддерживают альвеолярную стабильность [142].

В составе сурфактанта большинства млекопитающих дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) является наиболее важным фосфолипидом. Этот фосфолипид является основной причиной способности сурфактанта создавать чрезвычайно низкое поверхностное натяжение в конце выдоха, что является следствием высокой упаковки, которую ненасыщенные молекулы ДПФХ могут поддерживать при сжатии

межфазных пленок сурфактанта. Ключевую роль также играют отрицательно заряженные фосфолипиды, обычно фосфатидилглицерин\_(ФГ) и фосфатидилинозитол, взаимодействие которых с катионными гидрофобными белками (SP-B и SP-C) имеет решающее значение для переноса липидов в интерфейс и формирование поверхностно-активной межфазной пленки [142].

Сурфактант содержит четыре специфических белка SP-A и SP-D представляют собой гидрофильные белки, принадлежащие к семейству коллектинов, которые играют основную роль во врожденной иммунной защите. SP-B и SP-C, два высокогидрофобных аполипопротеина, имеют решающее значение для биофизической функции сурфактанта. SP-B представляет собой сапозиноподобный белок с мономером из 79 остатков, его получают путем органической экстракции смывов легких в виде гомодимера 18 кДа, ковалентно стабилизированного межмолекулярной дисульфидной связью. SP-B поверхностно взаимодействует с поверхностно-активными мембранами и монослоями благодаря своей в основном  $\alpha$ -спиральной вторичной структуре. SP-C представляет собой 35-мер и около 4 кДа с преимущественно  $\alpha$ -спиральной вторичной структурой, принимающей трансмембранную ориентацию. Он содержит два пальмитоилированных цистеина в N-концевой области. Белки SP-A, -B и -C выделены как связанные с поверхностно-активными липидными мембранами. Большая часть SP-D находится в свободном виде в лаваже, но он каким-то образом регулирует количество действующего сурфактанта в альвеолах, возможно, посредством взаимодействия со специфическими пулами сурфактанта, которые еще предстоит определить, но которые, вероятно, включают небольшие агрегаты сурфактанта, которые повторно поглощаются пневмоцитами и/или макрофагами с помощью SP-D-опосредованного механизма. Поверхностно-активные белки SP-A и SP-D также были обнаружены в других эпителиальных тканях. Предполагается, что их защитная роль может быть связана с работой всего интерфейса тело/окружающая среда [151].

В монослоях фосфолипиды головными группами ориентированы в сторону водной фазы, а гидрофобные ацильные цепи - в сторону воздуха (Рисунок 3 В). Ещё в работах 2008 года отмечалось, что при физиологической температуре только насыщенные цепи остатков пальмитиновой кислоты в молекулах ДПФХ могут упаковываться с высокой плотностью на границе раздела «воздух-вода», тем самым обеспечивая достаточное снижение коэффициента поверхностного натяжения, что является необходимым условием для стабилизации лёгких при выдохе. Изогнутые цепи ненасыщенных видов фосфолипидов, не могут быть упакованы на границе раздела «воздух-вода» выше определенного порога и, следовательно, не могут выдерживать возникающие напряжения [113]. Это объясняет, почему ДПФХ является основным фосфолипидным компонентом во всех доступных сегодня клинических препаратах поверхностно-активных веществ, причем эти поверхностно-активные вещества получают из природных экстрактов или получают с синтетическими липидами. Склонность к упаковке является основным признаком для определения поверхностной активности и организации структур поверхностно-активных веществ, в то время как фактическая упаковка фосфолипидов поверхностно-активных веществ зависит не только от состава ацильной цепи, но также от температуры, присутствия других липидов, таких как холестерин, а также интерфейсного состояния сжатия, как показано на рисунке 4 [93, 107, 109, 112, 113, 142].

Рисунок 4 суммирует текущие модели структуры липидных фаз фосфолипидов и ориентации тех мембранных белков SP-A, SP-B и SP-C, которые обычно выделяются вместе с легочными ПАВ.

В настоящее время появилось достаточно много работ по расшифровке структур этих белков. Однако, поскольку сурфактантные белки не являются основной темой нашего исследования, то в данном обзоре мы приведём только пионерские работы по исследованию строения мембранных белков ЛС.

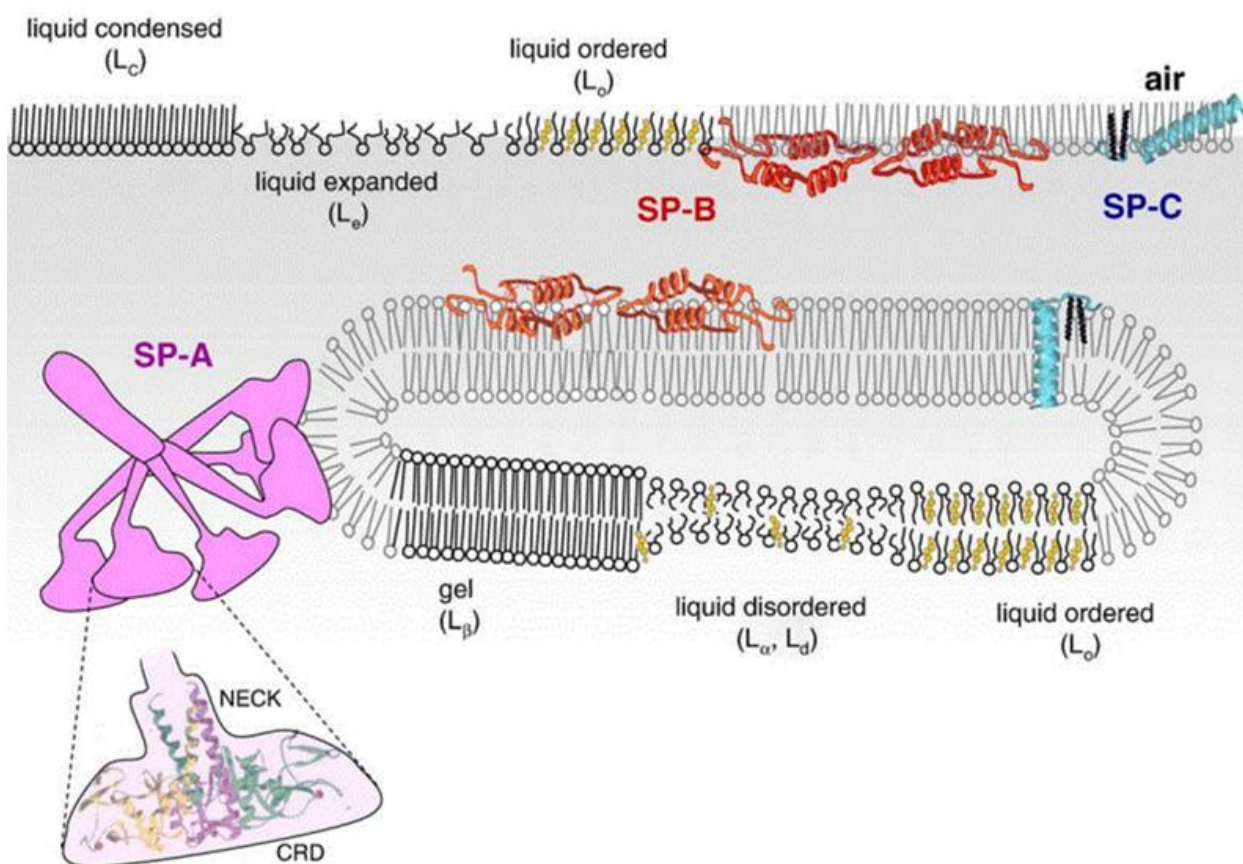


Рисунок 4 – Структура липидных фаз и мембранных белков легочного сурфактанта [адаптировано из 113]

Пространственная структуры протеина SP-A впервые была расшифрована в 2003 году исходя из данных электронной микроскопии и помещена в базу данных Protein Data Bank (PDB) с поисковым кодом 1r13. Параметры структуры димера протеина SP-B (1kmr (PDB)) были установлены по данным метода ЯМР в 2002 году. Трёхмерная структура белка SP-C также была получена благодаря ЯМР исследованиям для его конформационного состояния в органическом растворителе (код 1spf (PDB)) в 1994 году.

Организация и упаковка фосфолипидов ЛС представляют для нашей работы 'большой интерес. Различия в структурной организации ФЛ ЛС были подробно проиллюстрированы в работе 2008 года. Было выделено несколько различных фаз: гелевая, жидкая неупорядоченная и жидкоупорядоченная фазы бислоёв, а также в жидкая расширенная и жидко-конденсированная двумерная фаза в межфазных пленках. Также представлено возможное

распределение молекул холестерина, выделенных на Рисунке 4 желтым цветом, в упорядоченных и неупорядоченных фазах [113]. При низких температурах бислои фосфолипидов находятся в гелевой фазе, которая обозначается  $L_{\beta}$ . В фазе  $L_{\beta}$  молекулы липидов сильно упорядочены и имеют низкую латеральную подвижность. Если в составе фосфолипидов будет находиться высокая концентрация остатков насыщенных жирных кислот, так как ДПФХ, гелевая фаза будет очень плотно упакована. При температурах, превышающих пороговое значение, называемое температура перехода из геля в жидкость или  $T_m$ , бислои плавятся до жидкокристаллического жидкого состояния (фаза  $L_{\alpha}$ ). В фазе  $L_{\alpha}$  молекулы липидов приобретают значительную подвижность и относительно неупорядочены, что означает, что ацильные цепи часто подвергаются транс-гош-изомеризации по своим связям C – C. По этой причине жидкое состояние также ещё называют жидко-неупорядоченной фазой [113]. Температура плавления бислоев, образованных молекулами ДПФХ составляет  $41^{\circ}\text{C}$ , что немного выше физиологической температуры у гомойотермных млекопитающих. Следовательно, бислои чистого ДПФХ не будут полностью жидкими при  $37^{\circ}\text{C}$ . Бислои, состоящие из ненасыщенных фосфолипидов, имеют гораздо более низкие значения  $T_m$ . Пальмитоилолеоилфосфатидилхолин (ПОФХ), например, основной ненасыщенный фосфолипид в поверхностно-активном веществе, имеет температуру плавления  $-3^{\circ}\text{C}$ . Присутствие в поверхностно-активном веществе значительной доли ненасыщенных фосфолипидных разновидностей снижает температуру плавления поверхностно-активных мембран до значений ниже, чем у чистого ДПФХ, делая мембраны поверхностно-активного вещества текучими при физиологических температурах, что важно для улучшения их динамических свойств. Гелевая и жидкая фазы в бислоях имеют некоторое соответствие с порядком и упаковкой, определяемыми организацией фосфолипидов в межфазных монослоях. При постоянной температуре упаковка на границе раздела также может быть определена изменениями сжатия, то есть изменениями на поверхности, доступной для

перераспределения липидов, как это происходит во время дыхательных циклов или моделируется в поверхностных балансах *in vitro*. При низких уровнях сжатия молекулы фосфолипидов имеют низкую плотность упаковки и значительную конфигурационную свободу на границе раздела, составляя, так называемую, фазу расширенной жидкости ( $L_e$ ). В фазе  $L_e$  подвижность и порядок фосфолипидов будут качественно подобны таковым в двухслойной фазе  $L_\alpha$ . При достаточном сжатии на границе раздела фосфолипиды могут достигать сильно упакованного состояния, известного как жидкоконденсированная ( $L_c$ ) фаза. Высокий порядок и низкая подвижность молекул фосфолипидов в этой двумерной фазе на плоскости раздела «воздух-вода» приближаются к тем, которые демонстрируют бислои гелевой фазы. Фактически, липидные монослои могут быть сжаты до жидкоконденсированной фазы только при температурах ниже соответствующей  $T_m$  бислоев того же состава. На границах раздела сжатие может происходить и дальше, достигая крайних состояний упаковки, которые в принципе недоступны для фосфолипидов в двухслойных слоях, и приводить к образованию твердоупорядоченной фазы ( $S_0$ ). Такие твердые фазы больше не сжимаются и ведут себя как двумерные твердые тела, в которых молекулы фосфолипидов практически теряют латеральную подвижность, что неизбежно приводит к разрыву плёнки ПАВ при сжатии сверх определённого порога. Надо отметить, что плёнообразующая способность молекул ФЛ ЛС модулируется холестерином, который является важным компонентом нативного сурфактанта. Содержание холестерина обычно варьируется в пределах 5–10% по массе ЛС. К сожалению, холестерин часто удаляется из большинства клинических препаратов сурфактанта. Однако, присутствие достаточного количества молекул холестерина уменьшает упаковку фосфолипидов в бислоях и в монослое на границе с воздушной средой альвеол и, таким образом, увеличивает подвижность фосфолипидов. В результате, упорядоченные фазы приобретают намного 'большую текучесть, чем чистый фосфолипид при той же температуре. Напротив, неупорядоченные

фосфолипидные фазы в присутствии холестерина приобретают большую упорядоченность, поскольку обратимое включение (интеркаляция) плоских молекул стероида значительно снижает возможности конформационной энтропии ацильных цепей (транс-гош изомеризация) фосфолипидов. Таким образом, присутствие холестерина, заметно влияет на организацию фаз ЛС, как в бислоях ТМ, так и в монослоях плёнок на границе с воздухом. Низкое содержание холестерина при высоких температурах или низких уровнях сжатия приводит к образованию внутренне неупорядоченных фаз или областей в мембранах или пленках, называемых жидкими неупорядоченными фазами ( $L_d$ ). Рисунок 4 показывает, что упаковка, порядок и толщина (на слой) в общих чертах увеличиваются в порядке  $L_\alpha \approx L_d \approx L_c < L_o < L_C \approx L_\beta < S_o$  в разных фазах [113].

Как уже упоминалось, белки и медиаторы воспаления, попадающие в альвеолы с отечной жидкостью, нарушают функцию легочного сурфактанта на разных уровнях, включая его синтез, состав и структуру, метаболизм и межфазную активность. Клетки альвеолоцитов II повреждаются из-за воспаления и/или попадания инфекции, что приводит к серьезному нарушению продукции сурфактанта, а также к различным нарушениям его включения в легочную ткань вследствие гипероксии и высвобождения АФК. Следствием этого является резкое снижение оперативного пула сурфактанта и изменение липидного и белкового состава, что наблюдается при развитии ОРДС. Анализ состава БАЛ у пациентов с ОРДС показал увеличение концентрации общего белка и снижение концентрации общего фосфолипида. Что касается липидного состава сурфактанта, то уровень ФХ и ФГ был ниже, в том числе значительно снижено количество ДПФХ. Другие виды липидов, такие как фосфатидилинозитол, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, сфингомиелин и лизофосфатидилхолин имели повышенные уровни в образцах БАЛ у пациентов с ОРДС. Считается, что измененный состав ЛС является результатом: загрязнения альвеолярного сурфактанта клеточным детритом из поврежденных пневмоцитов II и

воспалённых клеток; наличия отечной жидкости; существования дефектов обратного захвата ЛС поврежденными клетками АТII. Что касается белков сурфактанта, в сурфактанте пациентов с ОРДС было обнаружено снижение концентрации SP-A и SP-B [153]. Снижение концентрации белка может быть следствием повреждения клеток альвеолоцитов II, что нарушают синтез белка. Более того, эти белки могут разрушаться компонентами отека. Было продемонстрировано, что SP-A может расщепляться нейтрофильной эластазой *in vivo* [41], а SP-B и SP-C *in vitro* [55].

Снижение количества белков сурфактанта влияет на структуру сурфактанта и внеклеточные превращения. SP-A и SP-B участвуют в формировании тубулярного миелина, который рассматривается как резервуар материала, готового к формированию мультислоев ЛС. SP-B и SP-C являются ключевыми белками для создания многослойной поверхностной пленки, необходимой для стабилизации границы газ/жидкость и обеспечения респираторной механики. Следовательно, правильный биогенез внеклеточной сети сурфактанта будет сильно нарушен у пациентов с ОРДС, что приведет к прогрессирующему снижению податливости легких и серьезному ухудшению состояния, что в конечном итоге приведет к дыхательной недостаточности [90, 144, 146].

При поврежденных легких у пациентов с ОРДС, кроме резкого снижения количества сурфактанта в дыхательных путях, также происходит инактивация функциональных свойств оставшегося ЛС. Белки плазмы и сыворотки, такие как альбумин или фибриноген, конкурируют с ЛС за достижение границы «воздух-вода». Плёнка белков создает стерический и электростатический энергетический барьер, препятствующий внедрению ФЛ ЛС в интерфейс или границу раздела. Такая конкуренция сурфактанта и белков плазмы и сыворотки крови зависит от их относительной концентрации. Концентрация сурфактанта в поврежденных легких снижается из-за деградации, отсутствия замены и разбавления вытекающей отечной жидкостью. Вещества, присутствующие в отечной жидкости, такие как

продукты перекисного окисления липидов, лизофосфолипиды, высвобождаемые фосфолипазами и С-реактивный белок, могут еще больше ухудшить активность сурфактанта [107].

В результате, из-за неэффективной сжимаемости и эластичности плёнки ЛС, на выдохе не достигается достаточно низкого поверхностного натяжения, что приводит к коллапсу альвеол и нарушению газового обмена [107]. Ингибирование сурфактанта сывороточными белками также может быть связано со снижением уровней сурфактантного белка SP-A. Было показано, что SP-A может противодействовать ингибированию ЛС компонентами сыворотки. SP-A, по-видимому, способен поддерживать большие липидные агрегаты вблизи поверхности раздела, готовые к включению в межфазные пленки во время вдоха, несмотря на присутствие поверхностно-активных белков сыворотки [138].

Таким образом, восстановление надлежащей функции легочного сурфактанта может иметь решающее значение для улучшения результатов лечения пациентов с ОРДС. Одним из методов восстановления функциональной активности ЛС является введение экзогенного сурфактантного материала. Однако, инактивирующая среда поврежденных и воспаленных легких также приводит к быстрой инактивации экзогенного сурфактанта. Современные клинические сурфактанты часто более восприимчивы к инактивации, чем эндогенные нативные комплексы. Таким образом, разработка методов лечения ОРДС в решающей степени зависит от разработки новых терапевтических материалов с повышенной устойчивостью к патологической инактивации [130].

### ***1.3.3 Препараты легочного сурфактанта***

Первые попытки лечения РДСН, известного в прошлом как болезнь гиалиновых мембран (HMD), были осуществлены путем введения суспензии насыщенных фосфолипидов, содержащей ДПФХ. Однако результаты не оправдали ожиданий, поскольку липиды сами по себе не могли эффективно

достигать границы раздела и образовывать поверхностно-активные пленки. Только после открытия белков SP-B, SP-C и описания ключевой роли этих гидрофобных белков в быстрой адсорбции и распространении поверхностно-активного вещества, природные поверхностно-активные вещества стали применяться на практике [68].

**Натуральные ПАВ** представляют собой продукты природного происхождения, состоящие из органического экстракта материала, полученного путем прямого лаважа альвеол, или из органического экстракта измельченных легких. Например, в России с 2000 года для лечения РДС новорожденных используется Сурфактант-BL, а с 2003 года и для лечения ОРДС у взрослых. Сурфактант-BL представляет собой мелко нарезанное лёгкое. Дозировки препарата для новорожденных 75 мг/кг массы тела, а для взрослых 12 мг/кг массы тела на введение в сутки [24, 130].

Эти экстракты содержат большинство гидрофобных компонентов, которые отвечают за основные биофизические характеристики ЛС, определяющие его функциональность. Как указано выше, ДПФХ является наиболее распространенным фосфолипидом, составляющим 40–45% массы этой нативной липидно-белковой смеси, и наиболее активным с точки зрения поддержания очень низкого поверхностного натяжения, поэтому ДПФХ всегда является наиболее распространенным компонентом клинических сурфактантов [130]. Однако, кроме липидной фракции они включают очень небольшую долю гидрофобных белков SP-B и SP-C. Кроме того, в этих экстрактах отсутствуют гидрофильные белки SP-A и SP-D, что делает их менее иммуногенными, но неизбежно сказывается на их функциональной активности [24, 130].

**Синтетические поверхностно-активные вещества.** Разработка новых синтетических поверхностно-активных веществ для потенциального использования в терапии экзогенными поверхностно-активными веществами в настоящее время может быть проанализирована с двух точек зрения: состава препарата и способа его введения. Оба вопроса имеют большое значение, так

как оба влияют на конечную эффективность сурфактанта в легких. Состав синтетического препарата имеет жизненно важное значение, так как минимальное количество компонентов может сделать конечный продукт более доступным, как с экономической точки зрения, так и с точки зрения более короткой процедуры допуска к медицинскому применению. Первый синтетический поверхностно-активный препарат - Колфосцерил (Exosurf®, GlaxoWellcome) содержит только липиды. Испытания, проведенные для сравнения эффективности синтетических сурфактантов и сурфактантов животного происхождения, показали, что в глобальном масштабе последние приводят к меньшему количеству смертей и меньшему количеству клинических осложнений, таких как пневмоторакс и потребность в искусственной вентиляции легких. Это объясняется тем, что недостаток гидрофобных поверхностно-активных липопротеинов неизбежно снижает действенность таких препаратов как Exosurf. Таким образом, невозможно создать эффективные синтетические сурфактанты без включения в состав лекарственных препаратов аналогов белков SP-B и/или SP-C [107]. Поскольку SP-B, по-видимому, является наиболее активным белком с точки зрения межфазного поведения, большинство синтетических поверхностно-активных веществ содержат пептид, напоминающий его. В начале 90-х был разработан синтетический пептид под названием KL4 как очень простой аналог, способный имитировать поведение SP-B, а именно амфипатическую структуру С-концевой последовательности, а также заряд гидрофобно/гидрофильного ядра сурфактантного белка SP-B [147]. Хотя KL4 был впервые синтезирован для воспроизведения поведения SP-B, он также напоминает вторичную структуру SP-C. К препаратам, представляющим собой синтетический сурфактант относится, например «Surfaxin», который содержит в своём составе синтетический пептид KL4 [130].

К настоящему времени многими исследованиями показано, что при патологических состояниях, приводящих к различным нарушениям состава, строения и функциональной активности сурфактанта, способность SP-B и его

аналогов обеспечивать межмембранные связи может иметь очень важное значение для восстановления и обеспечения хорошей работы ЛС [96, 111, 110, 149].

**Разработка устойчивых к ингибированию терапевтических поверхностно-активных веществ.** При разработке технологии получения препаратов ЛС в большинстве случаев удаляются многие компоненты, которые способствуют снижению ПН и отвечают за защитные и иммуномодифицирующие свойства ЛС. Это вызвано опасностью иммунологических реакций. К таким веществам относятся нуклеиновые кислоты, балластные белки и большие гидрофильные САБ. Чтобы компенсировать эти потери в получаемые смеси липидов добавляют различные компоненты. Полагают, что сложные по составу и содержащие САБ препараты эффективнее простых [61, 158].

Большое количество клинических исследований оценивало введение экзогенного сурфактанта в качестве потенциальной терапии для лечения пациентов с ОРДС. Дэвидсон и его коллеги провели анализ клинических исследований, осуществлённых в период с 1966 по 2005 год [68]. Они сравнили: тип используемого сурфактанта (синтетический или животного происхождения), метод доставки (доставленный с помощью бронхоскопии или интратрахеально, или аэрозольный), и дизайн исследования в отношении количества пациентов и критериев включения/исключения. В результате проведённого анализа был сделан вывод о незначительной эффективности применяемых препаратов. Частично это можно объяснить тем, что экзогенные клинические сурфактанты инактивируются аналогично эндогенному материалу. Кроме того, необходимые дозы клинических поверхностно-активных веществ животного происхождения имеют высокую стоимость.

В связи с этим, не прекращаются интенсивные исследования, направленные на разработку новых синтетических экзогенных сурфактантов с повышенной устойчивостью к ингибированию [61, 158].

## 1.4 Применение медицинских газов

### 1.4.1. Клинический случай

Положительный опыт применения  $\text{Xe}/\text{O}_2$  газовой смеси продемонстрирован, например, в публикации [30].



Рисунок 5 – Результаты МСКТ исследования органов грудной клетки после выписки пациента из больницы и до лечения  $\text{Xe}/\text{O}_2$  газовой смесью [адаптировано из 30]

Показана высокая эффективность даже кратковременных ингаляций для лечения дыхательной недостаточности и нейропсихических расстройств, которые, явились осложнением после перенесённого SARS-CoV-2.

Пациент в возрасте 48-и лет болел в течении 30 дней, из них проходил лечение в стационаре 17 дней. Основной выписной диагноз: U 07.1 – COVID-19, вирус SARS-CoV-2 (Использовались тесты для быстрого обнаружения нуклеиновых кислот вируса (SARS-CoV-2) (PCRFluorescence Probing, Jiangsu CoWin Biotech Co., Ltd., Китай) Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Fast Nucleic Acid Detection Kit (PCRFluorescence Probing, Jiangsu CoWin Biotech Co., Ltd., Китай). Осложнения: J12.8 – вирусная двусторонняя пневмония, тяжёлое течение, дыхательная недостаточность 3 типа (появление одышки в покое), с жалобами на слабость, хроническую утомляемость, сухой кашель, боли в грудной клетке, беспокойство, подавленное настроение. По данным мультиспиральной компьютерной томографии (МС КТ, Somatom Emotion 6 Slice Configuration, Siemens, Германия), в 45 % лёгочной паренхимы выявлялось затемнение по типу «матового стекла» (Рисунок 5).

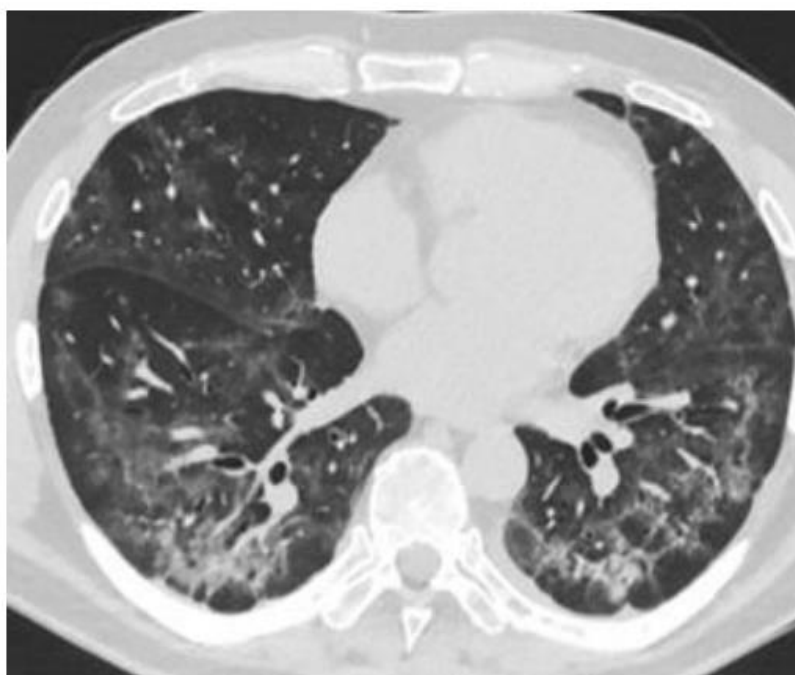


Рисунок 6 – Результаты МСКТ исследования органов грудной клетки пациента после курса ингаляции газовой смесью Xe/O<sub>2</sub> [адаптировано из 30]

Ингаляции проводились 1 раз в сутки, утром в течение 5 дней. Каждый вдох длился одну минуту. Состав газовой смеси: 70 % ксенона (Xe) и 30 % кислорода (O<sub>2</sub>). Для проведения ингаляций использовался ксеноновый

ингаляционный аппарат САКИ-стационарный (ООО «Научная корпорация «Биогазсервис», Россия) и ксенон медицинский XeMed (ООО «Акела-Н», Россия). Газовая смесь из аппарата пропусклась через прецизионный регулятор при давлении 0,02 МПа (расход 500 мл/мин) в дыхательный мешок объемом 3000 мл (Приложение 1).

Состояние пациента отслеживалось по следующим показателям: частота дыхательных движений (ЧДД), частота сердечных сокращений (ЧСС), сатурация кислорода в крови (SpO<sub>2</sub>). До начала ингаляционной терапии, ЧДД в покое составляла 30 дыханий в минуту; ЧСС – 94 удара в минуту; SpO<sub>2</sub> – 91 %. Данные психометрии до начала терапии следующие: умеренная депрессия (18 баллов по шкале HDRS); умеренная тревожность (22 балла по шкале HAS); умеренная избыточная дневная сонливость (14 баллов по шкале ESS) и бессонница (2 балла по шкале AIS). Уже в процессе проведения кратковременного курса ингаляций Xe/O<sub>2</sub> стали наблюдаться значительные изменения показателей состояния пациента (Таблица 1).

Таблица 1 – Динамика изменения показателей ЧСС, ЧДД и SpO<sub>2</sub>, % при проведении кратковременного курса терапии Xe/O<sub>2</sub> газовой смесью [30]

Parameters	Session 1		Session 2		Session 3		Session 4		Session 5	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
HR, per min	88	84	87	84	77	77	83	82	76	78
RR, per min	30	20	28	22	18	19	18	17	19	15
SpO <sub>2</sub> , %	91	98	92	97	96	97	96	98	97	98

По данным, приведённым в Таблице 1. видно, что после первого и второго сеансов ингаляции регистрировалось снижение ЧСС и ЧДД, а также достоверно повышался SpO<sub>2</sub>. После третьего сеанса показателям жизненно важных функций пришли в норму. Отметим, что SpO<sub>2</sub> после каждого сеанса ингаляции увеличивался, а ЧДД после четвертого и пятого сеанса снижался.

Субъективное обследование показало, что сразу после первого сеанса ингаляции состояние больного заметно улучшилось. Больным было отмечено уменьшение болевых ощущений в груди, изменение кашля (кашель стал влажным), нормализация сна, уменьшение слабости. На 7-й день терапии у больного прекратились боли в грудной клетке, одышка; кашель стал редким и сопровождался отделением лишь небольшого количества мокроты.

Психометрическая оценка, проведенная на 11-й день с начала осуществления курса ингаляционной терапии, показала: лёгкую депрессию (9 баллов по шкале HDRS), лёгкую тревожность (14 баллов по шкале HAS), отсутствие дневной сонливости (6 баллов по шкале ESS), бессонницу (1 балл по шкале AIS). Исследование органов грудной клетки методом МСКТ достоверное показало уменьшение очагов поражения лёгочной ткани. На Рисунке 6 затемнение по типу «матового стекла» выявляется только в 15 % паренхимы лёгкого против 45 % до проведения терапии, а также отмечалось усиление пневматизации лёгких (Рисунок 6). Объективный контроль состояния пациента проводился и по показателям периферической крови (Таблица 2), где также были зарегистрированы достоверные изменения.

По данным, приведённым в Таблице 2 видно, что в результате проведения кратковременного курса ингаляционной терапии  $Хе/O_2$  газовой смесью наблюдается снижение количества лейкоцитов (более чем в 2 раза) и происходит нормализация дифференциального анализа крови. В тоже время отмечалось небольшое снижение количества тромбоцитов, эритроцитов и гемоглобина. При этом скорость оседания эритроцитов увеличилась с 29 мм/ч до 42 мм/ч. Однако, такое изменение показателя СОЭ нельзя рассматривать как критерий выраженности воспалительной реакции организма, поскольку было зафиксировано снижение содержания С-реактивного белка (Таблица 3). Кроме того, выявлено снижение в крови уровня D-димера, трансаминаз (АЛТ и АСТ) и глюкозы (Таблица 3).

Таким образом, в цитируемой работе [30] наглядно показана высокая эффективность применения кратковременных ингаляций для лечения

дыхательной недостаточности и нейропсихических расстройств, явившихся в описанном клиническом случае, осложнением после перенесённого SARS-CoV-2. На момент выхода публикации [30] ещё 26 пациентов с COVID-19 проходили лечение в стационаре с помощью этого подхода. Сообщалось, что во всех случаях был выявлен выраженный положительный терапевтический эффект.

Таблица 2 – Изменения гематологических параметров при проведении кратковременного курса терапии Xe/O<sub>2</sub> газовой смесью [30]

<b>Para- meters</b>	<b>Before the inha- lation course</b>	<b>After in- halation course</b>	<b>Nor- mal range</b>
Red blood cell count, × 10 <sup>12</sup> /L	5.68	4.85	4.50-5.50
Hemoglobin, g/L	142	132	132-164
White blood cell count, × 10 <sup>9</sup> /L	14	6.4	4.0-9.0
Neutrophils segmentation, %	80	42.1	46-76
Stab neutrophils, %	5	2.0	0.0-6.0
Lymphocytes, %	15	42.5	18.0-40.0
Monocytes, %	0	9.4	0.0-12.0
Eosinophiles, %	0	2.4	0.0-6.0
Basophiles, %	0	1.6	0.0-2.0
Platelet count, × 10 <sup>9</sup> /l	276	174	150-400
ESR, mm/h	29	42	2-15

Таблица 3 – Изменения биохимических параметров при проведении кратковременного курса терапии Xe/O<sub>2</sub> газовой смесью [30]

Parameters	Before the inhalation course	After inhalation course	Normal range
D-dimer, ng/ml	620	460	< 250
ALT, U/L	130	59.25	0.00-40.00
AST, U/L	55	24.59	0.00-42.00
Total protein, g/L	60	63.4	64.00-83.00
Fasting glucose, mm/L	6.5	4.19	3.89–6.10
Cholesterol, mm/L	4.5	4.8	4.0–7.3
Total bilirubin, $\mu$ m/L	7.8	7.04	3.40-20.50
Urea, mm/L	6.7	5.84	2.10-7.10
Creatinine, $\mu$ m/L	60	95.16	44.00-115.00
C-reactive protein, mg/L	102.1	11.37	< 5.0

#### ***1.4.2 Ксенон и его соединения***

Для лечения ОРДС, исследовалась эффективность применения некоторых пульмонологических газов, например, оксида азота.

В последние годы в российских изданиях появилось много работ в которых показан хороший положительный лечебный эффект ксенон/кислородных ( $\text{Xe}/\text{O}_2$ ) газовых смесей в психиатрии, лечении алкогольной зависимости, наркологии, наркомании, острого инфаркта миокарда, инсульта, лечении болевых синдромов, депрессивных состояний, стресса, в спортивной медицине и др. областях.

**Ксенон (Xe)** – инертный газ, завершающий пятый период периодической системы элементов (восемнадцатая группа) с порядковым номером 54. На момент создания таблицы химических элементов Д.И. Менделеевым в 1869 году, выражающий периодический закон, такие благородные газы (Ng) как аргон, неон, криптон и ксенон ещё не были известны науке. Таким образом, существование ксенона и других Ng было предсказано, а открытие произошло в период 1894 - 1898 годах благодаря

работам английских учёных У. Рамзая и М. Траверса, которые, обнаружили все четыре инертных газа (Ne, Ar, Kr и Xe) изучая спектроскопическими методами разные фракции сжиженного воздуха.

На сегодня известны ковалентные соединения ксенона (XeB), где «B» это, прежде всего, галогены и кислород, а также клатратные соединения с молекулами воды и/или органическими молекулярными комплексами, в которых атомы ксенона образует не ковалентные связи, благодаря Ван-дер-Ваальсовским взаимодействиям. Кроме того, на формирование кристаллических структур галогенидов, оксидов и некоторых других соединений Xe заметное влияние оказывают, так называемые, нековалентные Ng-связующие взаимодействия благородного газа (или аэрогена) в составе NgB, которые могут быть описано как притягивающее взаимодействие между богатым электронами атомом или группой атомов и любым элементом группы 18, действующим как акцептор электронов [73]. Выделяют  $\sigma$ -дырочные и  $\pi$ -дырочные взаимодействия, которые обладают следующими общими особенностями: (1) сила взаимодействия зависит от поляризуемости  $\pi$   $\sigma$ -дырочного донорского атома (кислота Льюиса), (2) электрон-выводящей способности атомов, непосредственно связанных с ним, и (3) основы атома-акцептора  $\pi$   $\sigma$  дырки, обычно одиночной пары или  $\pi$ -системы [50, 77, 89]. Несколько теоретических работ показывают, что связи в соединениях благородных газов (NgB) ведут себя сообразно связям элементов групп от 13 до 17 [37, 86]. Особенно в тех соединениях, где ксенон связан с наиболее электроотрицательными элементами периодической системы, фтором и кислородом, для производных ксенона ожидается образование более положительных  $\pi$   $\sigma$ -дырок. Природа таких связей подробно обсуждается, например, в работах [116, 117, 118, 143].

#### ***1.4.2 Ксенон в медицине***

В наши дни, интерес к использованию ксенона в медицине постоянно растёт, что связано с множеством тех положительных эффектов, которые этот благородный газ оказывает на человеческий организм.

Применение Хе в медицине, прежде всего, связано с анестезиологией. Принято считать, что годом рождения ксеноновой анестезии является 1951г., когда С. Куллен и Э. Гросс (США) провели первый в мире наркоз ксеноном [93]. Истоки исследований в этой области связаны с именами Х.Х. Мейера и Н.В. Лазарева. В 1946 г. в Ленинграде известный советский токсиколог и фармаколог Николай Васильевич Лазарев в своём научном докладе сообщил о проявляемых ксеноном наркотических эффектах при нормальном атмосферном давлении. Результаты проведённых советскими учёными исследований подтвердили и развили предположения Ханса Хорста Мейера о том, что инертные газы проявляют анестетический эффект в прямой зависимости от их атомной массы: гелий (атомная масса 4,0) не проявляет наркотического эффекта даже при давлении в сто атмосфер; аргон (39,9) оказывает наркотический эффект при давлениях чуть ниже двадцати атмосфер; криптон (83,8) – при давлении порядка 3-4 атмосфер. Продолжив эту последовательность Н.В. Лазарев в 1941г. писал: «если истинная сила наркотического действия определяется наркотической концентрацией в воде и возрастает по тому же количественному закону, как от гелия к криптону, то ксенон должен вызвать наркоз при парциальном давлении ниже 1 ат.» [4].

Применение ксенона в анестезиологии, как и в других областях медицины, стало приобретать заметное развитие только в последние десятилетия, что тесно связано с общим развитием научно-технического прогресса и появлением новых, сравнительно не дорогих технологий/источников получения ксенона. В конце XX – начале XXI веков большой вклад в развитие исследований фармакологической активности и медицинских применений ксенона внёс отечественный учёный и врач Николай Евгеньевич Буров [4, 5, 6, 8, 9, 10, 18, 20, 22, 23, 85].

Кроме наркотического эффекта ксенона, известны его анальгетический, антигипоксический, иммуностимулирующий, противовоспалительный, анаболический, нейрогуморальный, вазоплегический, спазмолитический, кардиотонический, нейропротекторный, антистрессовый и другие физиологические и фармакологические свойства [4]. В связи с этим, во всём мире ведутся исследования по изучению возможности практического применения ксенона в разных областях медицины в лечебных и профилактических целях, а также для реабилитации. Кроме того, ксенон используется в некоторых методах исследования физиологического состояния организма, например, магнитно-резонансная томография лёгких с гиперполяризованным ксеноном [140].

Остановимся подробнее на некоторых эффектах ксенона. Способность Хе, даже в небольших концентрациях вызывать анальгезию позволяет применять ксенон-содержащие газовые смеси при лечении болевых синдромов различной этиологии в режиме ингаляционной аутоанальгезии как в условиях стационара, на этапе догоспитальной транспортировки, так и в домашних условиях (при необходимости) [5]. Для этого могут быть использованы соответствующие портативные устройства, например, респиратор с подачей аэрозольной смеси, распыляемой из баллончика [18]. Используемая в таких случаях аэрозольная смесь состоит из ксенона и кислорода в соотношении 1:1. Опыт применения показал, что наступление анальгетического эффекта при вдыхании смеси такого состава наблюдается приблизительно через 2-3 минуты [5]. Анальгетический эффект ксенона, также используется в комплексной терапии острого инфаркта миокарда (ИМ). Есть данные о том, что применение Хе в острой фазе ИМ приводит к сокращению болевого периода, уменьшает зоны ишемии миокарда, отмечаются положительные изменения ЭКГ, улучшается нейропсихическое состояние пациентов, отмечается стабилизация гемодинамики и показателей метаболизма [8]. Авторами большого числа работ отмечается впечатляющая гемодинамическая стабильность и отсутствие кардиотоксических эффектов

Хе по сравнению с другими ингаляционными анестетиками общего действия. Кроме того, отмечается положительное влияние Хе на сердечно-сосудистую систему по ряду важных показателей. По этим причинам ксенон называют лучшим анестетиком в кардиоанестезиологии [22].

Сообщается о выраженном антитоксическом эффекте ксенона у онкологических больных при химиотерапии. Применение Хе заметно ослабляет или полностью убирает негативные побочные эффекты химиопрепаратов, а также улучшает общее состояние пациентов [4, 85].

Применение ксенона или ксенонотерапия показывает положительный нейропротекторный эффект при лечении больных в отделениях реанимации (черепно-мозговые травмы, коматозные состояния, инсульт, энцефалопатии). Нейропротекторный и антигипоксический эффекты сказываются на сокращении периода коматозного состояния, происходит стабилизация нейровегетативных реакций и наблюдается улучшение картины параметров электроэнцефалограмм. Механизмы таких эффектов ксенона активно изучаются, но полного понимания механизмов его физиологического действия ещё нет [23]. Отмечается, что нейропротекторный эффект ксенона, повышение мозгового кровотока, заметно улучшается на фоне гипотермии [4, 6].

Известны противовоспалительный и иммунопротекторный эффекты ксенона, которые по данным работы [9] наблюдались у хирургических больных, получивших ксеноновую анестезию. В цитируемой работе сравнение проводится с однотипной анестезией закисью азота, которая, напротив, вызывает провоспалительную реакцию [9]. Есть работы, касающиеся органопротекторного действия ксеноновой анестезии при обширных операционных вмешательствах, в которых на большом практическом материале показано, что ксенон увеличивает кровоток в области печени и почек. Таким образом обеспечивается лучшая доставка кислорода, что делает использование ксенона многообещающим при критических состояниях и дисфункции органов [10].

Перечисленные выше свойства ксенона, такие как анальгетический эффект, усиление органного кровотока, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие позволяют применять его и в пульмонологии. Отмечается хорошая совместимость Xe с бронхолитиками, вазопрессорами и другими фармакологическими препаратами. Есть данные о том, что ксенон увеличивает дыхательный объем и делает дыхательные движения более редкими, при этом сохраняется минутный объем. Всё это снижает работу дыхания и сохраняет резервы организма. Известно также, что ксенон создаёт анаболический фон и уменьшает потребность тканей в кислороде [4].

Ксеноновая терапия благоприятное влияние оказывает при её использовании в неврологии и психиатрии, где ксенон себя показывает, как эффективный антидепрессант, а также для лечения алкогольной интоксикации, профилактики алкогольного делирия, абстинентного синдрома, а также при лечении наркомании, психических расстройств, тревожно-депрессивных состояний. Сокращается период лечения и реконвалесценции, быстрее восстанавливаются функциональные показатели организма [20]. По данным многих исследований, пациенты единодушно отмечают антистрессовый и стимулирующий эффекты сеансов ксеноновой терапии [4, 20].

В настоящее время наиболее распространённым способом поступления ксенона в организм остаётся ингаляционный, однако ведутся исследования по использованию других форм. Например, энтеральный приём жидкостных форм ксенона – насыщенные ксеноном, как правило, жиросодержащие жидкостные носители (молоко, сливки, масло, мази). Получение этих форм основано на высокой липофильности ксенона и обычно осуществляется барботированием ксенона через соответствующие жидкие среды. Использование таких форм ксенона в целях седации и обезболивания показывает хорошие результаты при различных патологических состояниях [20].

Важно отметить экологическую безопасность ксенона, по сравнению с закисью азота, который является парниковым газом, а также входит в перечень веществ, выброс которых в атмосферу приводит к разрушению озонового слоя. Галогеносодержащие анестетики (фторотан, этран, изофлуран, севофлуран и десфлуран) также представляют опасность для экологии планеты и по международному Киотскому протоколу их производство должно быть прекращено к 2030 году. В связи с этим можно ожидать более широкого применения ксенона, в том числе и как самого экологически безопасного анестетика, известного человечеству на начало XXI века. Впервые в мире ксенон был официально разрешен к применению в России в 1999 году (Приказ Минздрава №363 от 08.10.1999 г.), в качестве средства для анестезии. К настоящему времени в России создана необходимая нормативно-правовая база для практического применения ксенона в различных областях медицины, разработаны и успешно применяются уникальные технологии ксенон-сберегающей анестезии, накоплен достаточный клинический опыт по применению ксенона не только в анестезиологии, но и в других областях медицинской науки, планомерно осуществляется подготовка кадров по освоению технологий применения ксенона [4].

Тем не менее, медицинская наука сегодня делает только первые шаги по применению ксенона и других благородных газов (Kr, Ar, He) в лечебной практике. В связи с этим, создание новых методов ксеноновой терапии в пульмонологии, кардиологии, акушерской анестезиологии, детской хирургии, неврологии, наркологии, психотерапии, и других областях является весьма перспективным направлением развития в фармакологии и медицине [4].

#### ***1.4.3 Современные представления о механизмах действия ксенона на организм.***

В науке продолжают дискуссии в отношении определения молекулярной мишени действия различных анестетиков включая и ксенон. В соответствии с концепцией Мейер-Овертона сила анестетика связана с его растворимостью в оливковом масле. В отношении ксенона известно, что, растворяясь в липидах, он изменяет агрегатное состояние жиров и в какой-то мере должен иметь отношение к липидной теории наркоза. Поскольку мишенью нервной клетки является фосфолипидная мембрана, то изменение ее функциональных свойств при действии ксенона должно отразиться на проведение импульсов.

Однако, роль белков в качестве молекулярной мишени для большинства анестетиков, включая и Хе привлекает многих исследователей даже в большей степени, чем роль липидов. Известно, что большинство анестетиков вступают в связь с белками нейромедиаторов, а это отражается на функции ионных каналов и сигнальных протеинов. В этой связи крупным шагом в дальнейшем понимании механизмов наркоза была молекулярная теория, высказанная дважды лауреатом Нобелевской премии Л. Полингом в 1961г. Применяв метод рентгеноструктурного анализа, он выдвинул молекулярную теорию наркоза, основанную на клатратном механизме. Идея его была проста. Мозг человека состоит примерно из 78% воды, 10% белка и 12% жира. С каким компонентом будет реагировать Хе, когда он попадает в кровь человека через дыхательные пути? Ответ всем очевиден- с молекулами воды. Но ксенон в воде не растворяется ( $K=0,085$ ). Однако ксенон, как внешний «агент-пришелец» с молекулами воды образует соединение гидрат ксенона ( $\text{Xe}_6(\text{H}_2\text{O})$ ). Гидрат ксенона нестойкое соединение, в котором Хе является «гостем», а молекулы воды «хозяйкой», принявшей гостя в свои объятья по законам притяжения масс слабыми силами Ван-дер-Ваальса. В результате этого соединения образуется диполь, полюса которого притягивают друг друга, соединяются между собой с образованием кластеров-«водяных молекул». Клатраты-кластеры (они же кристаллы) вступают в пространственные частотно-полевые взаимодействия с рецепторами и

участками мембраны нервной клетки, захватывают электрические цепочки белков клеточной мембраны, повышают ее проницаемость, снижают метаболизм, создают помеху электрическим колебаниям (импеданс), создают торможение, что проявляется в угнетении биоэлектрической активности мозга и наступлении наркоза [20, 51, 140].

Структурные и динамические изменения свойств клеточной мембраны, вызванные ксеноном, могут влиять на функцию мембранопосредованных белков, что позволило выдвинуть гипотезу о механизме общего анестетического действия, объединяющую два вышеизложенных подхода. В работе [20] использовались методы молекулярной динамики и дифференциальную сканирующей калориметрии для изучения биофизических и термодинамических эффектов ксенона на модельных липидных мембранах. Полученные результаты показали, что атомы ксенона преимущественно локализуются в гидрофобной сердцевине липидного бислоя, вызывая существенное увеличение площади липида и толщину бислоя. Ксенон понижает температуру фазового перехода мембранный гель – жидкий кристалл, увеличивая текучесть мембран и расстояние между группами липидных головок, вызывая при этом эффекты локального упорядочения в небольшой области липидных углеродных хвостов и модулируя профиль бокового давления в бислое. Такие результаты согласуются с ролью неспецифических, опосредованных липидным бислоем механизмов в обеспечении общего анестезирующего действия ксенона.

Введение инертных газов легочным путем представляет собой важный шаг в их полезном применении, которое зависит от патологии, стоимости газа, условий и продолжительности лечения. Новой задачей станет разработка альтернативных систем доставки этих терапевтических газов. Сообщалось об экспериментах по эффективной доставке Xe через липосомы, микропузырьки и интеллектуальные полимеры. Такие методики могут быть использованы применительно и к другим благородным газам [81].

#### ***1.4.4 Теоретические (in silico) исследования применения ксенона в биологии и медицине***

В молекулярных исследованиях существуют три широкие категории: одна связана с мембранами, а другая связана с белками/рецепторами и ионными каналами как кандидатами на роль биологических мишеней, в частности анестетиков. Также обсуждается расширенная гипотеза: возмущение мембран, включающая в рассмотрение концепции микротрубочек и важность липидных рафтов и каналов в мембранах [59].

##### **Белки, методы скрининга (докинг)**

Со времени первых биологических исследований Хе в 1951 году [60] исследования показали, что благородные газы обладают широким спектром биологических эффектов, таких как антиаддиктивные свойства, защита тканей, анестезия, нейропротекция, влияние на память, обезболивание и ингибирование апоптоза [148]. Первичный механизм действия Хе для анестезии и нейропротекции был идентифицирован как антагонизм к N-метил-D-аспаратному рецептору [98], но полное понимание было неуловимым. Кроме того, весьма вероятно, что многие другие типы полезной биологической активности Хе еще предстоит открыть.

Учитывая очень большое количество потенциальных белковых мишеней для инертных газов, список которых продолжает расти, очевидно, что проведение крупномасштабных фармакологических экспериментов для обнаружения полного спектра их биологической активности невозможно. Эта трудность усугубляется тем, что фармакологические эксперименты с газообразными агентами более сложны, чем эксперименты с небольшими органическими молекулами [75].

Возможности вычислительной химии и доступность высокопроизводительных вычислительных ресурсов означает, что теперь можно надежно изучать взаимодействия между благородными газами и экспоненциально растущим числом доступных экспериментальных белковых структур. Прежде всего, используют быстрые методы, чтобы сделать вывод о

неизвестной до сих пор биологической активности благородных газов на основе силы связывания и сайтов связывания на очень большом количестве белков с экспериментальными структурами. Эти методы (обратная стыковка) доказали свою эффективность в поиске мест связывания лекарств в недавних исследованиях [88].

Проведено *in silico* скрининг ~ 130 000 белков в банке данных белков с каждым из пяти нерадиоактивных благородных газов [97]. Изначально приоритет отдаётся взаимодействиям Хе, потому что он обычно имеет самую сильную свободную энергию связывания с белками и уже было показано, что он проявляет ряд биологических активностей в нормобарических условиях. Не и Ne имеют схожие характеристики связывания, которые отличаются от характеристик более тяжелых благородных газов, но имеют более низкую энергию связывания, поэтому вряд ли вызовут биологические реакции. Подробное описание методов проведения компьютерного скрининга структурного протеома, можно найти в публикации [62]. В цитируемом исследовании использовался банка данных о белках (<http://www.rcsb.org>), январь 2017 г.). Были рассчитаны расстояния между предсказанными позициями связывания инертных газов и атомов в лигандах в экспериментальных структурах. Использовалось программное обеспечение открытого доступа для расчета сетки и стыковки AutoDock и Autogrid (Институт Scripps, <https://autodock.scripps.edu>), однако требовалось изменение структурных файлов для совместимости с этими пакетами. Глобальные данные размещены в открытом доступе в La Trobe University OPAL после регистрации. Полный набор данных о взаимодействии инертных газов с большим количеством изученных в этой работе белков доступен на сайте [group18.csiro.au](http://group18.csiro.au). Этот сайт позволяет исследователям визуализировать, где каждый благородный газ связывается с карманами в выбранном белке в зависимости от отсечки энергии связывания.

Программное обеспечение AutoDock [44] является гибким, простым в настройке параметров для благородных газов, легко программируемым,

тщательно проверенным для широкого спектра белков и лигандов и может выполнять множество вычислений параллельно, когда доступно несколько ЦП или графических процессоров. Программное обеспечение создает сетку размером  $0,375 \text{ \AA}$  вокруг каждого белка и помещает зондовый атом благородного газа в каждую позицию сетки снаружи и внутри белка. Энергия взаимодействия между атомом-зондом и белком рассчитывается, а энергии больше нуля (отталкивающие связывающие взаимодействия) удаляются. Для сайтов связывания, расположенных в белке, рассчитывали положение с наиболее благоприятным (наибольшей отрицательной энергией) в системе координат белка. Это было использовано для расчета близости мест связывания инертных газов и любых низкомолекулярных лигандов в экспериментальной структуре. Точки сетки – это точки внутри и вокруг белковых структур, в которых рассчитывается энергия взаимодействия, а группы соседних точек сетки с благоприятными энергиями связывания определяют сайт связывания. Таким образом, большинство сайтов привязки содержат несколько точек сетки [106].

Благородные газы имеют тенденцию связываться с липофильными областями сайта связывания. Общие характеристики связывания благородных газов были определены путём анализа остатков аминокислот, связанных с расчётами участками связывания благородных газов. Эти сайты обогащены небольшими гидрофобными аминокислотами, связанными с гидрофобными сайтами связывания. Гидрофобность сайтов связывания рассчитывали как комбинацию двух показателей - оставшейся доступной для растворителя площади поверхности (SASA) атома газа и гидрофобности контактирующих атомов белка [104].

Прогнозы докинга могут лечь в основу более подробных молекулярно-динамических (МД) расчетов взаимодействия, включенных в короткий список мишеней с инертными газами. Они позволяют изучать динамику белков, оценивать скорость включения и выключения сайтов связывания и определять

траектории, по которым благородные газы получают доступ к белкам и оценить вероятную фармакологическую активность благородных газов [106].

### **Мембраны, микротрубочки и липидные рафты. Методы молекулярной динамики.**

Реальную проблему представляет собой учёт уникальных электронных и спиновых характеристик Хе. Микроскопические подходы, соответствующие характерным чертам биологических систем, были разработаны на основе достижений теории межмолекулярных взаимодействий. Связывание ксенона с возможными партнерами было проанализировано с помощью теории возмущений, адаптированной к симметрии, чтобы дать представление о природе взаимодействия, а моделирование аддуктов / комплексов позволяет нам рационализировать их биологические, например, анестезирующие свойства.

На первом этапе компьютерного моделирования систем анестетики - рецепторы функциональных белков обычно используют молекулярный докинг и методы молекулярной динамики (МД). Описание траекторий МД предоставляют информацию полезную, например, для анализа доминирующих конформационных состояний молекул и макромолекул, а также физико-химических свойствах образующихся молекулярных комплексов в данных состояниях.

Обсуждается расширенная гипотеза: возмущение мембран. Вовлечение клеточной мембраны в общую анестезию вытекает из проведенных исследований, но механизм далеко не ясен. Моделирование мембранных и макромолекулярных систем в настоящее время быстро развивается. До конца XX века мембранная гипотеза была представлена в основном классической МД фосфолипидной мембраны. В настоящее время при постановке задач для симуляций методами молекулярной динамики выделяют три основных подхода. Согласно первому подходу, в качестве основной мишени для молекул анестетиков рассматривают сами липидные мембраны, при этом используются классические модели фосфолипидных мембран [115]. В

классическом молекулярно-динамическом моделировании фосфолипидных мембран обычно используются системы, состоящие из 256-и полностью гидратированных молекул 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилэтаноламина (POPE). Первые работы по МД с использованием таких модельных систем появились двадцать лет назад и до сих пор этот подход активно используется.

В рамках второго подхода, в качестве основных мишеней рассматриваются микротрубочки внутри нейронов [39] и третий подход рассматривает липидные рафты, при этом предполагается, что молекулы анестетиков липидные рафты разрушают, что приводит в выработке определённых сигнальных молекул [104]. Микротрубочки цитоскелета внутри нейронов состоят из тубулина, с молекулами которого напрямую могут связываться анестетики, как например галотан [38]. Группой Тушинского обнаружено, что в участках тубулина, образованного поляризуемыми неполярными аминокислотами, анестетики могут изменять резонанс колебаний  $\pi$ -электронного облака. Показана очень сильная корреляция между сдвигами в резонансных колебаниях электронного облака под действием анестетика и его эффективностью [38].

### **Результаты компьютерного моделирования поведения Хе в различных системах.**

Как говорилось выше, физико-химические свойства ксенона делают его идеальным ингаляционным анестетиком. Ксенон не оказывает негативного влияния на окружающую среду, в отличие от таких ингаляционных анестетиков, как хлорфторуглероды и закись азота. В атмосфере Земли содержание ксенона оценивается в  $0,086\text{—}0,087\text{ см}^3$  на  $1\text{ м}^3$ , а в земной коре кларк Хе составляет порядка  $3 \cdot 10^{-5}$  мг/кг (по А.Е. Ферсману) [120-123]. Коэффициент распределения кровь/газ ксенона всего 0,15 (0,12) и МАК составляет 63%, что определяет высокую управляемость и эффективность ксенонового наркоза. Эффективность ксенона примерно вдвое выше закиси азота, характеризуется быстрой индукцией анестезирующего эффекта и столь же быстрым восстановлением при хорошей сердечно-сосудистой

стабильности. Хе оказывает анестезирующее действие на разные виды живых существ, включая дрозофилу, мышей и человека [63, 75, 106]. Механизм анестезирующего действия Хе остаётся неясным. Атомы благородных газов, имея замкнутую электронную оболочку, могут в мягких условиях биологических систем, прежде всего, образовывать нековалентные взаимодействия благодаря действию сил Ван-дер-Ваальса (vdW). Например, было обнаружено, что стабильные аддукты в некоторых Ван-дер-Ваальсовых системах образует аргон [70, 87].

Рассмотрим подробнее методы моделирования поведения инертных газов в липидных системах. Например, в работе [40] методами МД проводили сравнительное исследование поведения инертных газов на бислоях POPE (256 молекул) в водном растворе (40 молекул H<sub>2</sub>O на липид) в присутствии и в отсутствии атомов благородных газов. При описании сил, определяющих природу межмолекулярных взаимодействий, основную роль играют свойства замкнутых электронных оболочек атомов Ng. Парные взаимодействия неполярных сферических молекул описывается (аппроксимируется) потенциалом Леннарда-Джонса (LJ). Для соответствующих Ван-дер-Ваальсовских параметров использовалось универсальное силовое поле (UFF). По влиянию инертных газов на мембраны POPE установлена следующая последовательность Ne < Ar < Kr < Хе от самого слабого к самому сильному, что хорошо согласуется с их анестезирующей активностью. По результатам МД-моделирования, внутри липидного бислоя было распределено больше атомов ксенона, чем других Ng, что оказывало влияние на расположение липидов в мембране. По-видимому, это соответствует сильному наркотическому действию ксенона. Кроме того, этот результат подтверждает гипотезу мембраноопосредованного механизма анестезии [40]. Результаты этой теоретической работы хорошо коррелируют с экспериментальными данными, представленными в работе Koziakova et al. [105] о том, что *in vitro* ксенон и аргон одинаково защищают от гипоксии-ишемии. Также, в цитируемой работе [105] было показано, что механизм действия ксенона

связан с влиянием на глициновый участок рецептора NMDA, тогда как аргон ионотропный рецептор глутамата не ингибирует и, вероятно, действует другим способом [63, 87, 105].

В другой теоретической работе [70] также рассматриваются влияние четырёх Ng (Ne, Ar, Kr, Xe) на состояние липидного бислоя по следующим параметрам: площадь, приходящаяся на липид ( $S$ ), толщина ( $h$ ), приходящаяся на липид и объем ( $V = S \cdot h / 2$ ), приходящийся на липид (Рисунок 7). В порядке положения рассматриваемых инертных газов (Ne, Ar, Kr, Xe) в восемнадцатой группе периодической системы Д.И. Менделеева меняются два из трех параметров  $S$  и  $V$ , что соответствует изменению анестезиологической активности. Параметр  $h$  не поддерживает эту тенденцию, поскольку Xe характеризуется меньшим параметром толщины  $h$  бислоя по сравнению с чистой мембраной [70].

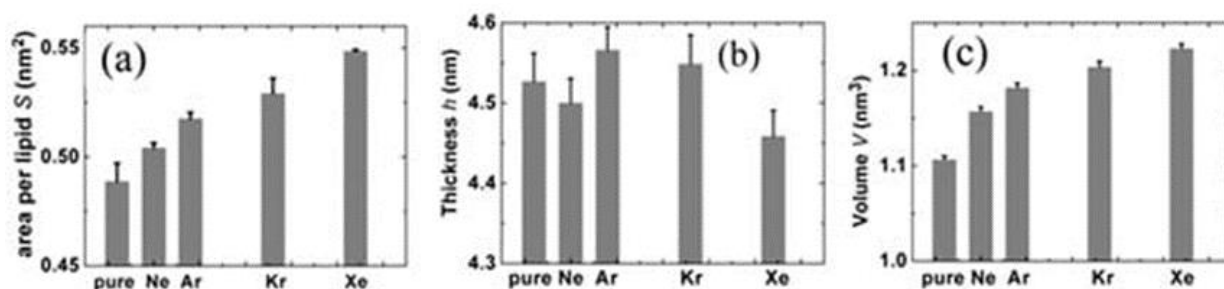


Рисунок 7 – Влияние молекул инертных газов (Ne, Ar, Kr, Xe) на структурные характеристики липидного бислоя: (а) площадь  $S$ , (б) толщина  $h$  и (в) объем  $V$ , приходящиеся на липид; планки погрешностей означают среднеквадратические отклонения [адаптировано из 70]

Подобные расчеты методами МД были выполнены для изучения влияния давления на диффузные характеристики ксенона и двойных слоёв липидных мембран [65]. Исследователи обнаружили, что увеличение давления приводит к подавлению диффузии атомарного ксенона, при этом ксенон концентрируется в средней части липидной мембраны.

Одним из известных на сегодня механизмов действия ксенона является его способность вмешиваться в работу NMDA-рецептора (рецептор, селективно связывающий N-метил-D-аспарат). Разные группы

исследователей проводили МД-моделирование процесса взаимодействия ксенона с лиганд-связывающим доменом (LBD) рецептора NMDA. Например, Liu et al. [92] провели МД-симуляции системы связывающих доменов белковых структур NMDA-рецептора (с открытой и закрытой щелью LBD) и атомарного ксенона. Было обнаружено, действие Хе зависит от конформации субъединиц, образующих канал рецептора, при этом механизмы ингибирующего действия ксенона могут быть связаны как с конкурентными, так с неконкурентными процессами. Конкурентное ингибирование вызвано тем, что Хе ослабляет связывание агониста рецептора - глутамата, снижая эффективность его действия. К неконкурентному ингибированию приводит способность Хе вызывать перестройку канала в направлении уменьшения размера пор. Такие изменения соответствуют закрытому каналу или его десенсибилизации [92].

В работе Andrijchenko et al. [154] была рассмотрена способность ксенона ингибировать рецептор NMDA по сайту связывания глицина, в качестве антагониста рецептора. На первом этапе исследования была построена молекулярно-динамическая модель домена связывания лиганда NMDA, с использованием данных о кристаллической структуре белка 2A5T (PDB) в комплексе с глицином. На следующем этапе, глицин в лиганд-связывающем ядре комплекса был заменён на ксенон. Результаты проведённой МД симуляции (программный пакет NAMD) показали, что атом ксенона не покинул полость рецептора, сформированную остатками ароматических аминокислот, несмотря на присутствие молекул воды [154]. Заметим, что это вполне ожидаемый результат, поскольку сложно представить возникновение ощутимой конкуренции между молекулами воды и липофильным ксеноном внутри гидрофобных карманов белка за места вблизи остатков ароматических аминокислот, формирующих стенки полости. Дальнейший анализ конформационных изменений вдоль траекторий МД показал, что как минимум три сайта связывания внутри полости заняты атомами ксенона. Для детального рассмотрения этих сайтов, были проведены QM/MM расчёты с

использованием теории функционала плотности DFT(BHNLYP)-D2/6-31G\* (программный пакет NWChem) [154]. Анализ результатов *ab initio* расчётов показывает, что природа связывания атомарного ксенона с ароматическими фрагментами в структуре протеина NMDA-рецептора хорошо описывается образованием комплексов  $\pi$ -типа (Рисунок 8). На рисунке 8 представлены  $\pi$ -комплексы Xe с остатком фенилаланина (структура I), а также с остатком фенилаланина и триптофана (структура II).

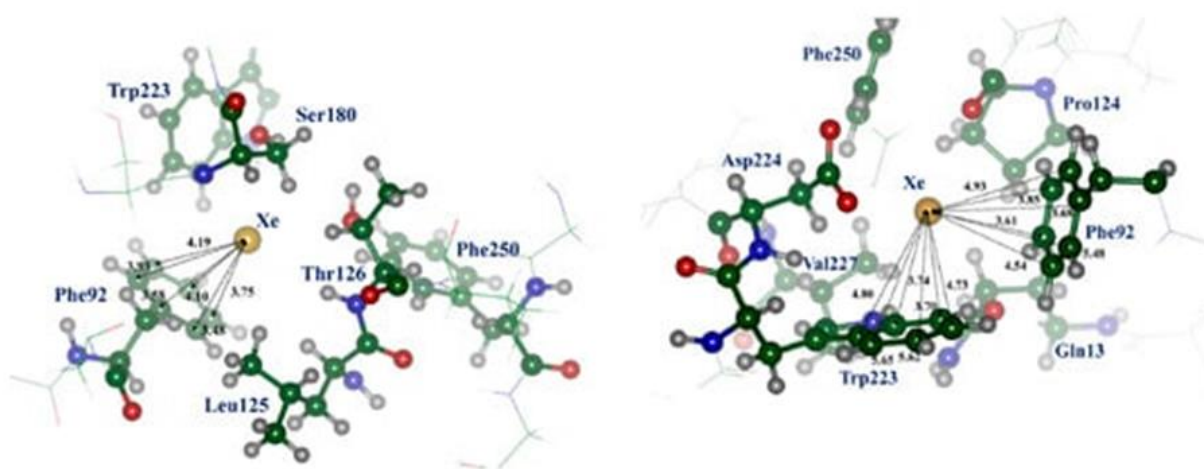


Рисунок 8 – Модели сайтов связывание атома ксенона в протеине NMDA-рецептора по типу  $\pi$ -комплексов: Структура I (слева) комплекс Xe с остатком фенилаланина (Phe92); Структура II (справа) комплекс Xe с остатками триптофана (Trp223) и фенилаланина (Phe92); Атом С — зеленый, N — синий, O — красный [адаптировано из 154]

Авторы цитируемой работы [154], также пришли к выводу, что атомарный ксенон может конкурировать с молекулами глицина за связывание с NMDA-рецептором.

В обзорной работе 2021 года [59] со ссылкой на неопубликованные результаты Dziecioł, B., Gańko, S. и Sukras, J. приводится более подробное описание сил взаимодействия в такого рода комплексах ксенона из анализа SAPT (симметрично-адаптированная теория возмущений). Результаты расчётов Dziecioł et al., выполненные с использованием SAPT0/aug-cc-pVDZ, где релятивистские эффекты для атома ксенона учитываются с помощью

эффективных остовных потенциалов (ЕСР), показывают картину различного характера взаимодействия в зависимости от места связывания (Рисунок 9). На рисунке 9 показаны комплексы Хе с аспарагином и фенилаланином. В обоих случаях значительные энергии отталкивания обменных взаимодействий компенсируются, помимо электростатического притяжения, вкладами индукции и дисперсии, что и обеспечивает устойчивость комплексов, в конечном итоге. Видно, что соотношение энергии дисперсии и индукции различно в данных комплексах. В случае взаимодействия Хе с фенилаланином вклад дисперсии больше, а индукция значимее в случае комплекса с аспарагином.

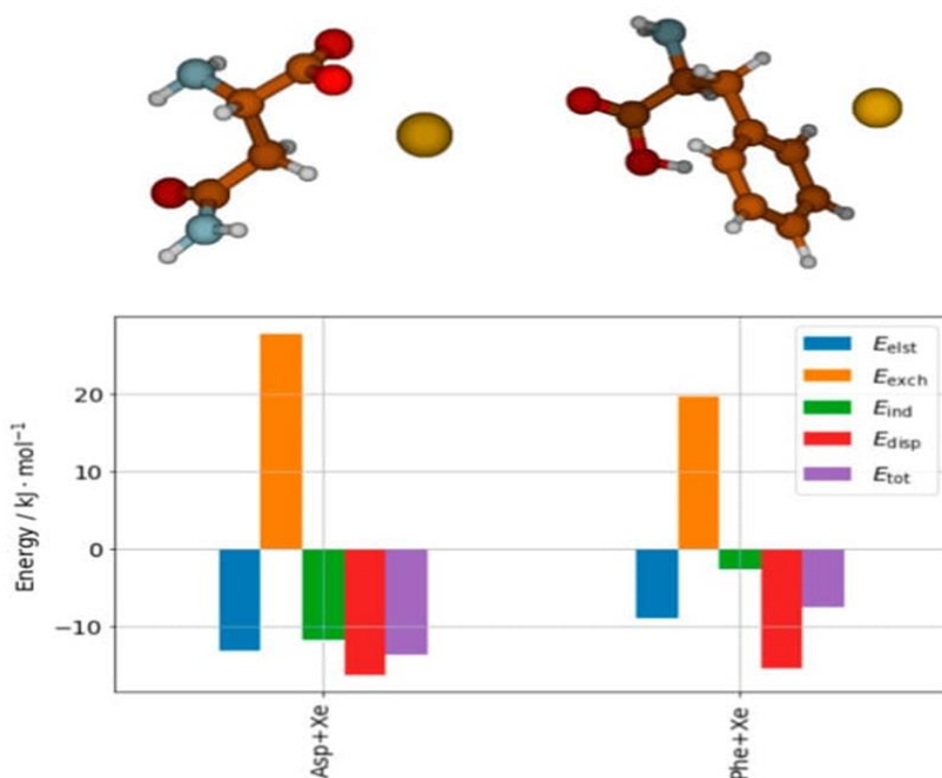


Рисунок 9 – Структуры комплексов атомарного Хе: (слева) с аспарагином (Asp+Xe), (справа) с фенилаланином (Phe+Xe); SAPT анализ энергий взаимодействия [адаптировано из 59]

Есть ряд интересных работ, в которых показано, что анестезирующее действие ксенона может быть связано с переносом неспаренных электронов, а также может зависеть от ядерного спина. Это представляет собой новый подход к физике процессов, определяющих механизм самой анестезии.

Например, ещё в 2014 году Турин и др. [155] по данным электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), описали измерения спиновых характеристик у мушек *Drosophila melanogaster* под действием таких общих анестетиков как ксенон, гексафторид серы, закись азота и хлороформ. На Рисунке 10 по трассам измерений спина видно, что в случае  $\text{CHCl}_3$  происходит необратимое (в данном временном масштабе) резкое увеличение разности и временного хода кривой, в случае  $\text{SF}_6$  изменения схожие, но обратимые, Хе вызывает слабые изменения, а на закись азота реакция отсутствует. Применительно к Хе, в несколько более поздней работе (2018) было обнаружено, что у дрозофил не наблюдается изменения спина, если к ксенону не добавлялся кислород [156].

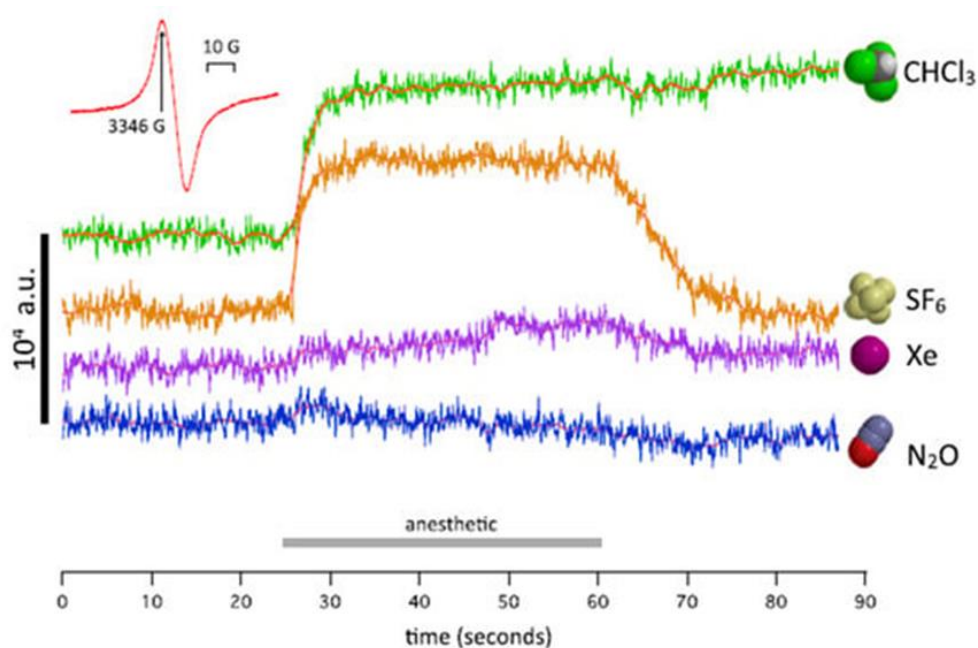


Рисунок 10 – Трассы измерений спина у одной и той же партии мух W1118 WT (при фиксированном значении магнитного поля 3346 Гс) под действием  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{SF}_6$ , Хе и  $\text{N}_2\text{O}$  [адаптировано из 155]

У двух мутантных штаммов, устойчивых к анестетикам, не наблюдается спиновая реакция на  $\text{CHCl}_3$ , из чего авторы сделали вывод о том, что эти спиновые изменения вызваны возмущением электронной структуры белков общими анестетиками [155]. Результаты проведённых *ab initio* расчётов показывают, что общие анестетики возмущают и расширяют самую высокую

занятую молекулярную орбиталь  $\alpha$ -спирали соответствующих белковых структур. Рассчитанные возмущения качественно соответствуют правилу Мейера-Овертона и некоторым его исключениям из чего авторы пришли к выводу о возможности существования связи между спином, электронными токами в клетках и функционированием нервной системы [155].

В работе Ли и соавторов [106] изучалось влияние нулевого и ненулевого ядерного магнитного спина различных изотопов ксенона в эксперименте по их анестезирующей активности у животных. Было обнаружено, что анестезирующая активность изотопов ксенона с ненулевым ядерным магнитным спином, меньше анестезирующей активности изотопов ксенона с нулевым спином. Методом DFT/B3LYP была рассчитана поляризуемость четырёх изотопов ксенона, а именно:  $^{129}\text{Xe}$  ( $I = 1/2$ ),  $^{131}\text{Xe}$  ( $I = 3/2$ ),  $^{132}\text{Xe}$  и  $^{134}\text{Xe}$  с одинаковым спином ( $I = 3/2$ ). Полученные значения поляризуемости для изотопов близки (около 3,60 Å). Наблюдаемую разницу в анестезирующей активности нельзя было объяснить различиями в строении внешних электронных оболочек, или различиями в атомных массах, или поляризуемостью, поэтому авторы предположили, что «квантовое свойство» ядерного спина изотопов Xe связано с процессами сознания в месте действия анестетика [106].

Результаты изучения ксенона как общего анестетика, демонстрирующего изотопную зависимость, показаны в публикации [124], в которой такие эффекты ксенона объясняются механизмом, в котором ядерный спин ксенона влияет на динамику рекомбинации естественной радикальной пары электронов с учётом сверхтонких взаимодействий, называемого радикально-парный механизм (РПМ). Такой подход развивают, в частности, при рассмотрении магниторецепции перелётных птиц по механизму радикальной пары в криптохроме [45, 66, 69]. РПМ — это явление сохранения системой множественности спинов, которое возникает при одновременном образовании двух радикалов, когда спины неспаренных электронов, соответствующих радикальных частиц, коррелируют друг с другом некоторое

время в синглетной или триплетной конфигурации. Если каждый неспаренный электрон испытывает различное локальное магнитное поле, то синглетное и триплетное спиновые состояния будут взаимно преобразовываться. В работе [124] показано, что в случае ксеноновой анестезии, гамильтониан РПМ зависит не только от числа атомов ксенона в месте связывания рецептора (NMDA-рецептор), но и от сверхтонких взаимодействий и, следовательно, от константы сверхтонкого взаимодействия. Эти результаты согласуются с идеей о том, что радикальные пары электронов с запутанными спинами могут быть важны для сознания [124].

#### ***1.4.5 Применение других инертных газов в медицине***

Достоверно установлено, что у пациентов, переносящих инфекционное заболевание, вызванное SARS-CoV-2, включение ингаляций подогретой гелий/кислородной газовой смеси (t-He/O<sub>2</sub>) в стандартный комплекс терапевтических мер по лечению пневмоний I и II степени тяжести (по КТ-признакам), снижает вирусную нагрузку и повышает эффективность лечения [7]. Наблюдается усиление выработки антител IgG и IgM, при этом снижается уровень маркеров воспаления, что позволяет говорить о эффекте «термовакцинации». Продолжается изучение результатов использования t-He/O<sub>2</sub> в терапии пациентов с пневмонией III степени тяжести (по КТ-признаками). Однако положительный эффект у тяжёлых больных, также продемонстрирован достаточно наглядно. В связи с этим проводится дальнейшее изучение проблемы применения подогретого t-He/O<sub>2</sub> и статистический анализ уже имеющихся данных [3, 7, 25, 27].

Особое внимание вызывает способность гелий/кислородной газовой смеси оптимизировать температурный режим организма [27]. В частности, тепловое воздействие смеси приводит к возбуждению терморцепторов, что, в свою очередь, вызывает рефлекторное расслабление гладкой мускулатуры бронхов, улучшение кровоснабжения лёгких, снижение вязкости мокроты и облегчает её дренирования [3]. Наблюдаемые эффекты связаны, прежде всего,

с высокой теплопроводностью гелия и его потрясающей диффузионной способностью. Однако, до настоящего времени механизмы действия ингаляций t-He/O<sub>2</sub> на различные системы и физиологические функции организма человека недостаточно изучено. Сейчас бесспорно показана важность достаточно высокой температуры ингаляционной смеси, поскольку известны нежелательные побочные явления применения He/O<sub>2</sub> комнатной температуры. Такие явления представляют собой нарушения в терморегуляции слизистых оболочек верхних и нижних отделов дыхательных путей, по сути, их переохлаждение. Это приводит к ухудшению реологических свойств бронхиального секрета, образованию слизистых пробок в дистальных отделах дыхательной системы. В научной литературе были описаны случаи смерти больных при повторных ингаляциях HeO<sub>2</sub> комнатной температуры [12], а также при ингаляциях гелия с низкой температурой [1]. Таким образом, обязательным условием использование газовых смесей, содержащих He является высокая температура (подогрев) газовых смесей, что обусловлено механизмом действия гелия, который ещё недостаточно изучен.

Известен положительный опыт использования многокомпонентных газовых смесей. Например, «для спасания раненых с большой потерей крови и сопутствующим переохлаждением (экзогенной и эндогенной гипотермии), находящихся в полевых условиях, при невозможности экстренной эвакуации в условия стационара, предложена лечебная дыхательная смесь газов (1), в которой концентрация кислорода составляет 21-25 об.%, гелия 40-50 об.%, аргона 25-35 об.% и ксенона в концентрации от 2 до 10 об.%. Температура дыхательной смеси газов (1) составляет 30-70°C» [16]. Вторая, предложенная в цитируемом патенте [16] лечебная дыхательная смесь газов (2) содержит ксенон в концентрации 5-35 об. %, аргон 25-35 об. %, кислород от 30 до 60 об.%. Температура дыхательной смеси газов (2) составляет 20-70°C. Раненого переводят вначале на режим дыхания первой дыхательной смесью газов, которую подают в течение 5-50 минут для купирования гипотермии, а затем на режим дыхания второй дыхательной смесью газов. Изобретения

обеспечивают значительное снижение смертности при ранениях с большой кровопотерей и в условиях низких температур окружающей среды в полевых условиях и резерв времени до 6-8 часов и более для эвакуации раненого в условия стационара для проведения комплекса стандартных лечебных процедур» [16]. Кроме того, известны криопротекторные свойства ксенона и аргона [15].

## **2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ДЕТАЛИ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИХ РАСЧЁТОВ**

### **2.1 Методы моделирования ОРДС при пневмонитах**

#### ***2.1.1 Методы моделирования патологических процессов с использованием бактериального липополисахарида***

При моделировании патологических процессов с целью изучения системного воспалительного ответа и эндогенной интоксикации (ЭИ), которые возникают и сопровождают различные виды соматической патологии, такие как ожоги, травмы, инфекционные заболевания и т.д., часто используется бактериальный липополисахарид (ЛПС) [11, 32, 83]. ЛПС выделяют из клеточной стенки грамотрицательных бактерий (*Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Особенности строения молекул данного эндотоксина, делают ЛПС универсальным антигеном, который обладает как групповой, так и типовой неспецифичностью. В известной нам литературе, при моделировании патологических процессов, чаще всего используется либо ЛПС, полученный от *Salmonella typhi* и *Salmonella typhimurium* 486 («Sigma», USA), либо ЛПС *Escherichia coli*. Например, в работе [83] для моделирования острого повреждения легких с вторичным повреждением почек при интратрахеальном введении эндотоксина, используется ЛПС *Escherichia coli* штамм O111:B4.

Молекулярное строение ЛПС хорошо представлено в [11]: в молекулярной структуре липополисахарида принято выделять несколько основных компонентов, а именно O- или S-полисахаридные цепи, R-

центральный олигосахарид и гидрофобный липид А. Собственно цитотоксическое действие ЛПС обусловлено О-антигеном и липидом А, которые взаимодействуют непосредственно с клеточными мембранами. О-антиген является поверхностной структурой бактериальной мембраны и представляет собой полимер, образованный повторяющимися цепочками из 20-40 моносахаридов. Характерное строение цепей О-антигена обуславливает основные физико-химические и биологические свойства ЛПС, в частности его гетерогенность. Однако, максимальной токсичностью для клеток человека обладает липид А, которая при определённых условиях превышает токсические эффекты полисахаридной составляющей в сотни раз. Это гидрофобная, проксимально расположенная часть ЛПС образована фосфорилированным Р-1,6,0-глюкозаминном с несколькими остатками жирных кислот. Например, ЛПС выделенный из *Escherichia coli* (*E.coli*) имеет в своём составе 6 остатков жирных кислот, в том числе, остатки миристиновой и лауриновой кислот, а также 2 фосфатные группы. Белковая часть ЛПС связанная с липидом А, повышает иммуногенность эндотоксина, который начинает взаимодействовать с клетками иммунной системы сразу после высвобождения, вызывая развитие воспалительного ответа. В составе липополисахарида выделяют три основных компонента (домена), определяющих его токсический эффект – это О-антиген, липид А и R-центральный олигосахарид или ядро, которое также обуславливает развитие определенных эффектов эндотоксина. Так называемое ядро, состоящее из нескольких молекул сложных сахаров и трисахарида 2-кето-3-деоксиоктоновой кислоты, находится между О-полисахаридом и липидом А и представляет собой довольно стабильное образование, в котором выделяют внешние и внутренние компоненты. Внешняя часть ядра ЛПС включает в себя D-глюкозу, D-галактозу, N-ацетил-D-глюкозамин. Во внутренней части ядра находится глицеро-D-манно-гептоза 2-кето-3-дезоксид-манно-октулозоновой кислоты [11]. Классификацию, использующихся в биологическом моделировании ЛПС задаёт наличие или отсутствие

соответствующих отдельных доменов, определяющих цитотоксичность. Так, выделяют S-ЛПС, в котором присутствуют все три компонента; в R-ЛПС отсутствует O-антиген; в Re-ЛПС содержится липид A с одним или двумя остатками 2-кето-3-дезоксооктоновой кислоты. Разновидности липополисахаридов в которых есть различные нарушения строения олигосахаридов внутренней и внешней ядерной частей обозначают как Ra-ЛПС, Rd1-ЛПС, Rb1-ЛПС, Rc-ЛПС. Патогенные свойства ЛПС вызывают развитие таких неспецифических патологических процессов как лихорадка, лейкоцитоз/лейкопения, синдром системного воспалительного ответа и аутоиммунной агрессии. Возникновение и развитие этих процессов зависят от типа конкретного ЛПС, его концентрации и длительности воздействия, а также от реактивности самого организма, например, от чувствительности рецепторов к ЛПС, иммунологической толерантности и некоторых других факторов [11, 83].

Кроме пирогенности, токсичности и активации выработки белков острой фазы, среди основных биологических эффектов ЛПС обычно отмечают влияние на реологическую картину крови за счет воздействия на форменные элементы и эндотелий сосудов. Такие изменения лежат в основе патогенеза различных заболеваний и возникают как результат активизации циклооксигеназного и липооксигеназного путей превращения жирных кислот. Кроме того, цитокин-опосредованные эффекты эндотоксина приводят к развитию ДВС-синдрома (диссеминированное внутрисосудистое свёртывание, коагулопатия, тромбгеморрагический синдром). Формируется полиорганная недостаточность, поскольку системное воздействие ЛПС приводит к нарушению проницаемости гистогематических барьеров, стимуляции системы фагоцитов и массивному выбросу медиаторов, что в свою очередь блокирует процессы детоксикации в печени и приводит к повреждению внутренних органов вторичными продуктами метаболизма [11, 32, 83].

Более детально о механизмах биохимических процессов, возникающих под действием ЛПС известно, что «При попадании в системный кровоток ЛПС происходит активация системы фагоцитов (лейкоциты, макрофаги, Купферовские клетки и др.), что приводит к выработке биологически активных веществ липидной и белковой природы таких как простагландины, фактор активации тромбоцитов, лейкотриены, интерлейкины, система интерферона, ФНО- $\alpha$ , NO и др. В последующем ЛПС в крови связывается с белком, осуществляющим перенос ЛПС на мембрану клетки-мишени (моноциты, нейтрофилы) и передается CD 14, который не имеет эндоплазматического домена и в связи с этим передает сигнал на комплекс TLR4 и MD-2 с активацией ряда белков, к которым относятся фактор дифференцировки миелоидов MyD88, TIR-содержащий адаптерный белок TIRAP, TIR-содержащая адаптерная молекула TRIF и TRIF-родственная адаптерная молекула TRAM, что в свою очередь приводит к активации ядерного фактора Каппа $\beta$  (NF $\kappa$ B) и интерферонрегулирующего фактора 3 (IRF3). Таким образом, механизм распознавания бактериального ЛПС включает следующие компоненты: LBP, CD14, TLR4 и MD-2, которые экспрессируются на моноцитах, макрофагах, лимфоцитах, эндотелиальных и эпителиальных клетках.» [83]. Известно также, что клеточный ответ зависит от концентрации ЛПС в кровеносной системе: при низких концентрациях ткани организма повреждаются выборочно; введение средних концентраций ЛПС приводит к развитию системных воспалительных реакций (лихорадка); при высоких концентрациях наблюдается наступление эндотоксинового шока. Кроме того, различные концентрации эндотоксина приводят к различному характеру гибели клеток. Так, введение ЛПС в концентрации 0,01 мкг/л приводило к гибели клеток-мишеней, в основном, путём апоптоза, а увеличение дозы в 100 раз (1,0 мкг/л) сопровождалось преобладанием выраженных некротических изменений [83].

Обычно выбор дозировки бактериального ЛПС рассчитывается исходя из LD<sub>50</sub> для каждой конкретной экспериментальной группы с учётом

соответствующих способов введения. Например, в обзоре [11] рассматривается ряд научно-исследовательских работ по изучению роли бактериальных липополисахаридных комплексов для моделирования различных патологических состояний, связанных с воспалительным ответом ЛПС-индуцированного повреждения внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки, кишечник, органы эндокринной системы) экспериментальных животных, а также клеточных культур различных тканей и компонентов фагоцитарной системы (преимущественно макрофагов и лимфоцитов) с целью возможной патогенетической коррекции данных состояний [11]. Несмотря на универсальность патогенного влияния ЛПС, многофакторное исследование его токсического действия привело к созданию новых экспериментальных биологических моделей. В частности, описаны модели с внутрибрюшинным (интраперитонеальным), подкожным, ингаляционным, внутривенным, внутрикишечным, интратрахеальным, внутрикраниальным способами доставки ЛПС, выбор которых оказывает влияние на характер и выраженность патогенного действия эндотоксина, а также на скорость развития моделируемых патологических процессов. Для экспериментальных моделей по изучению патоморфологических изменений дыхательной системы (бронхолегочной), чаще всего используют интратрахеальный способ введения липополисахаридного комплекса [11].

Например, в исследовании [32] при формировании пневмопатии и изучении влияния некоторых противовоспалительных препаратов описано использование интратрахеального или ингаляционного способа введения ЛПС. Концентрации варьировались от 200 мкг/кг, 16 мг/кг - до 2 г/л. От вводимой концентрации эндотоксина зависела степень повреждения дыхательных путей и лёгочной ткани. Степень повреждения последней характеризуется изменениями структуры альвеолярных перегородок (утолщение), наличием спавшихся и эмфизематозно расширенных альвеол, появлением экссудата и лимфоцитарной инфильтрацией (отёк), полнокровием сосудов, кровоизлияниями [32]. Со стороны бронхов, при таком способе

введения ЛПС, также наблюдалось появление белкового экссудата с примесью эритроцитов и лейкоцитов, а также десквамация эпителия. Длительное применение бактериального ЛПС приводило к появлению всех морфологических признаков хронического воспаления с преобладанием лимфоцитарной инфильтрации, участками пневмофиброза, чередованием участков ателектаза и эмфизематозно измененной легочной ткани [32]. Такого рода патологические изменения характерны для развития острого респираторного дистресс синдрома, который возникает при многих респираторных заболеваниях, включая COVID-19. Вот почему, в настоящее время для индукции ОРДС широко используется интратрахеальное введение бактериального липополисахарида как отдельно, так и в сочетании с другими агентами [32]. Такая модель воспроизводит основные характеристические особенности ОРДС, такие как диффузное альвеолярное повреждение легких, высокая летальность и избыточная продукция интерлейкина-6 (IL-6) — ключевого провоспалительного цитокина.

### ***2.1.2 Методы моделирования патологических процессов с использованием ацидин-пепсина.***

Другим, часто встречающимся способом формирования моделей острого повреждения дыхательных путей и лёгочной ткани, имеющих полиэтиологический характер и развивающихся в результате системной воспалительной реакции, является введение в просвет трахеи растворов ацидин-пепсина (в физиологическом растворе с показателем кислотности порядка 1,2 – 1,5 единиц шкалы pH) [2]. Действие данного травмирующего агента инициирует выброс тех биологически активных веществ, которые являются медиаторами воспаления, происходит активизация системы комплемента, высвобождается фактор некроза опухоли альфа, происходит выброс различных интерлейкинов (ИЛ6, ИЛ8), начинаются каскадные процессы образования свободных радикалов, что приводит к дальнейшему развитию патологических структурных и функциональных изменений в дыхательной системе. К характерным повреждениям лёгочной ткани в

рассматриваемой модели относятся повышенная проницаемость сосудов и формирование отёка лёгких (накопление внесосудистой жидкости и экссудации белковых компонентов), кроме того, важную роль играет повреждение сурфактанта. Различные нарушения архитектоники сурфактанта и его функциональной активности способствует процессам микроателектазирования. В результате возникает артериальная гипоксемия и другие нарушения газового обмена, что способствует развитию острой дыхательной недостаточности [2].

### ***2.1.3 Методика эксперимента моделирования ОРДС при пневмониях***

Методики, по которым проводилось моделирование ОРДС в представляемой работе опубликована нами в 2023 году [164]. Эксперименты проведены на 120 аутбредных мышах-самках CD 1 массой 18-25 г (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.»

Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Комиссией по биоэтике института (протокол-заявки № 168032020 от 18.05.2020 г.).

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>Е.coli</sub> (n=40); ОРДС<sub>ап</sub> (n=40). Группы с ОРДС<sub>Е.coli</sub> (n=40) и ОРДС<sub>ап</sub> (n=40) были разделены на равные части, где 20 особей из каждой модели вентилировались Хе/О<sub>2</sub> смесью (ОРДС<sub>ап+Хе</sub> и ОРДС<sub>Е.coli+Хе</sub>), а 20 особей – О<sub>2</sub>/воздушной (ОРДС<sub>ап+О<sub>2</sub></sub> и ОРДС<sub>Е.coli+О<sub>2</sub></sub>). Исследования с забором материала проводили через 1, 3, 5, 7 сутки (терминальные точки) после моделирования ОРДС [164].

## **2.2 Метод ингаляционного введения Хе в составе Хе/О<sub>2</sub> газовой смеси.**

Способ ингаляционного введения Хе в составе Хе/О<sub>2</sub> газовой смеси также нами опубликован [164]. Первую ингаляцию проводили через 1 час после моделирования вариантов ОРДС. Ингаляции Хе/О<sub>2</sub> 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 Хе и О<sub>2</sub>, что позволило определить их потребление. Избыток СО<sub>2</sub> 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 11 представлена экспериментальная установка для ингаляций.

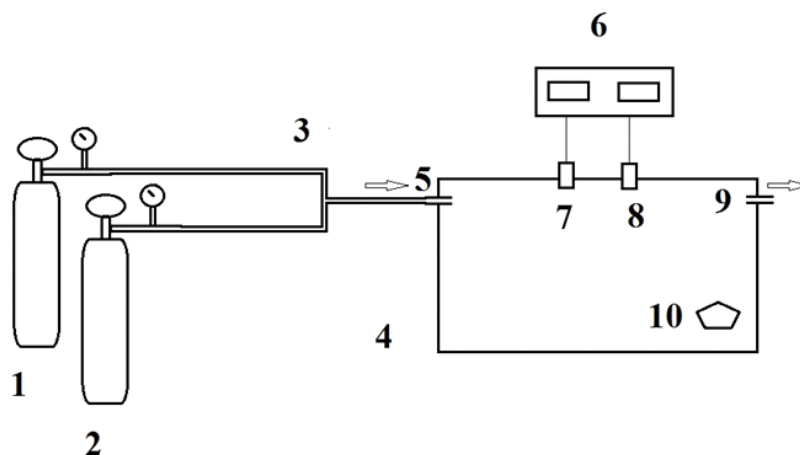


Рисунок 11 – Установка для ингаляции газовой смесью. 1- баллон с ксеноном, 2- баллон с кислородом, 3 – газовый тракт, 4 – корпус камеры для ингаляции, 5 –штуцер для входа газа, 6 – газоанализатор, 7- датчик кислорода, 8- датчик ксенона, 9 – штуцер для выхода избытка газа, 10 – сорбент углекислого газа [адаптировано из 164]

### 2.3 Метод определения коэффициента поверхностного натяжения лаважной жидкости

Определение поверхностного натяжения БАЛ проводили согласно международному стандарту ИСО 4311—79 «Анионные и неионногенные поверхностно-активные вещества. Определение критической концентрации мицеллообразования. Метод определения поверхностного натяжения с помощью пластинки, скобы или кольца». Измерение поверхностного натяжения жидкости проводили методом отрыва кольца (метод дю Нуи) с помощью тензиометра К6 фирмы KRUSS (Рисунок 12) при температуре 25 °С. Физико-химические основы метода заключаются в измерении усилия, которое возникает при отрыве рамки (обычно в виде проволочного кольца) от поверхности исследуемой жидкости. При поднятии рамки, соприкасающейся с поверхностью жидкости, вместе с рамкой поднимается столбик жидкости связанной с материалом рамки благодаря силам смачиванию и адгезии.

Приложенное (вытягивающее) усилие равно весу вытягиваемой жидкости. Калибровку прибора осуществлялась с помощью измерения поверхностного натяжения бидистиллированной воды (поправочный коэффициент=1,013).



Рисунок 12 – Тензиометр К6 фирмы KRÜSS

Традиционным способом выделения легочного сурфактанта является получение бронхо-альвеолярного смыва с последующим его фракционированием: для этого обнажали грудную клетку для зрительного контроля; легкие промывали 3 раза при одновременном мягком массаже легочной ткани под визуальным контролем; общий объем полученного бронхо-альвеолярного смыва центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин для удаления клеточных элементов; надосадочную жидкость забирали и использовали для биофизических и биохимических исследований.

#### **2.4 Метод гистологического 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.

## **2.5 Измерение (мониторирование) массы**

Один раз в сутки измеряли массу животных, а на терминальных точках оценивали, массу лёгких (Весы лабораторные Scout Pro).

## **2.6 Метод коагулологического исследования (определение уровня АТ-III)**

Количественное определение уровня антитромбина III (АТ-III) проводилось по стандартной методике, опубликованной, например в [13]: «Содержание 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- pNA → Пептид + pNA» [13].

## **2.7 Методы статистической обработки результатов**

Статистический анализ проводился 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  $p < 0,05$  [164].

## **2.9 Компьютерное моделирование механизма фармакологического действия лекарственного вещества (Xe и Ne, Ne, Ar, Kr)**

### ***2.9.1 Методики оптимизации геометрии структур и расчёт термодинамических параметров реакций***

Оптимизацией геометрической структуры молекулярной системы называется поиск координат атомов, при которых система имеет наименьшее значение энергии. Оптимизация геометрических параметров 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 [67], который содержит псевдопотенциалы для тяжелых атомов, учитывающие релятивистские эффекты [67, 72, 79, 80, 160].

### ***2.9.2 Проверка применимости выбранной расчётной схемы***

Хорошо известно, что качество любых квантово-химических расчетов определяется соответствием между экспериментальными и рассчитанными физико-химическими параметрами. Для проверки адекватности использованного в квантово-химических расчётах метода мы провели частотный анализ, сравнив теоретический и экспериментальный

колебательные спектры пальмитиновой кислоты в ИК-диапазоне. Пальметиновая кислота является хорошо изученным веществом, с молекулярной формулой  $C_{16}H_{32}O_2$  структура которой содержит цепь насыщенного углеводорода нормального строения, что определяет сходство пальметиновой кислоты с молекулами изучаемой системы, моделирующей агрегированные фосфолипиды ЛС. Проведено сравнение, соответствующих теоретических и экспериментальных спектров (<https://webbook.nist.gov>). Полученная корреляция показана на рисунке 13. Хорошее совпадение экспериментальных и теоретических значений говорит об адекватности использованного расчётного метода для изучения данного объекта исследования.

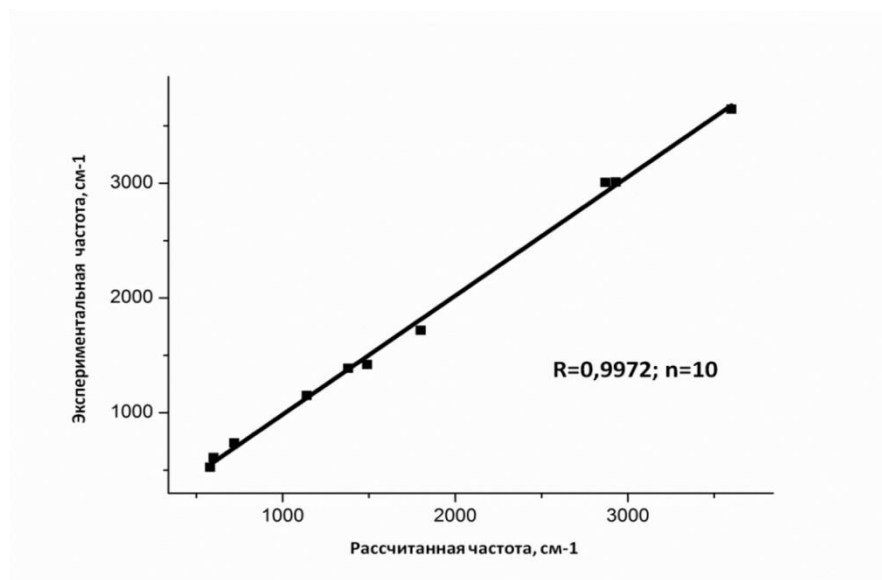


Рисунок 13 – Корреляция между экспериментальным ИК-спектром и рассчитанным (B3LYP/lan12dz, Gaussian'09) колебательным спектром пальмитиновой кислоты

Кроме частотного анализа колебательных спектров, осуществлён сравнительный анализ теоретически рассчитанных термодинамических параметров реакции гидрирования  $C_{16}H_{30}O_2$  в  $C_{16}H_{32}$ , а также для процесса замещения молекулы азота на атом ксенона в комплексе  $(CH_3^+)N_2$  для которых тепловой эффект (энтальпия) реакции определён экспериментально и

соответствующие данные размещены в базе NIST (Таблица 4). Выбор эталонных веществ сравнения для оценки адекватности использованных расчётных методов, также сделан по сходству состава и структуры молекул.

Согласно следствию из закона Гесса, изменение энтальпии реакции ( $\Delta_r H^\circ(298K)$ ) можно найти как разницу между суммами энтальпий образования продуктов ( $\sum \Delta_f H^\circ(298K)_{\text{прод.}}$ ) и реагентов ( $\sum \Delta_f H^\circ(298K)_{\text{реаг.}}$ ) реакции с учетом стехиометрических коэффициентов по формуле:

$$\Delta_r H^\circ(298K) = \sum \Delta_f H^\circ(298K)_{\text{прод.}} - \sum \Delta_f H^\circ(298K)_{\text{реаг.}}$$

Другие термодинамические параметры реакций ( $\Delta_r G$ ,  $\Delta_r S$ ) рассчитываются аналогично.

По данным таблицы 4 видно, что значения теоретических и экспериментальных энтальпии и энергии Гиббса реакций близки, что позволяет сделать вывод о том, что использованная расчётная схема может быть использована для изучения модельных систем, состоящих из насыщенных и ненасыщенных углеводородов и атомарного ксенона.

Таблица 4 – Сопоставление расчетных (B3LYP/lanl2dz, Gaussian'09) и экспериментальных термодинамических параметров реакций (по данным NIST)

Реакция	$\Delta H_{\text{эсп.}}$ кДж/моль	$\Delta H_{\text{расч.}}$ кДж/моль	$\Delta G_{\text{эсп.}}$ кДж/моль	$\Delta G_{\text{расч.}}$ кДж/моль	Источник
$H_2 + C_{16}H_{32} = C_{16}H_{34}$ жидкая фаза; растворитель: гексан	-123,8	-115,7 (газ)	-80,6	-79,5	Rogers, D.W.; Skanupong, S., <i>Heats of hydrogenation of sixteen terminal monoolefins. The alternating effect</i> , J. Phys. Chem., 1974, 78, 2569-2572.
$H_2 + C_{16}H_{30}O_2 = C_{16}H_{32}O_2$ жидкая фаза; растворитель: гексан	-125,1	-115,9 (газ)		-86,5	Rogers, D.W.; Hoyte, O.P.A.; Ho, R.K.C., <i>Heats of hydrogenation of large molecules. Part 2. Six unsaturated and polyunsaturated fatty acids</i> , J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1, 1978, 74, 46-52.
$CH_3^+ + Xe = (CH_3^+ \cdot Xe)$ газовая фаза	213,0		19,25	17,04	Terrance B. McMahon, Thomas Heinis, Gordon Nicol, Jamey K. Hovey, and Paul Kebarle Methyl Cation Affinities J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 7591-7598 7591

Для изучаемых модельных систем все расчеты были проведены как в газовой фазе, так и с учетом растворителя (вода) методом РСМ (IEFPCM) [47, 48, 64], который используется в программе Gaussian'09 по умолчанию.

### ***2.9.3 Молекулярный электростатический потенциал***

Визуализация результатов расчёта, включающая информацию о электростатическом потенциале (МЭП), проводилась с использованием графического интерфейса GaussView 5.0.8. [64].

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Исследование (*in vivo*) ксенон-индуцированных эффектов в купировании экспериментального ОРДС при пневмонитах.

Некоторые части приведённых ниже результатов представляемой работы опубликована нами в [164]. 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>Е.coli</sub> отмечаются лишь несущественные различия. Однако, к 24 часам в обеих моделях ОРДС определялось двукратное снижение альвеолярной воздушности и 3-4 кратное увеличение бронхиального экссудата, что сказывается на значениях такого параметра, как коэффициент поверхностного натяжения лаважной жидкости.

Результаты измерения величины поверхностного натяжения лаважной жидкости полученной в модели ОРДС<sub>Е.coli</sub> представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Результаты определения коэффициента поверхностного натяжения, мН/м

Бидистиллированная вода	Изотонический раствор	Сурфактант интактный контроль	Сурфактант (ОРДС <sub>Е.coli</sub> )	Сурфактант (ОРДС <sub>Е.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  $\text{Xe}/\text{O}_2$ ) 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 (Рисунок 14).

Действительно, на диаграмме «А» (рисунок 14) видно, что при ОРДС<sub>ап+O2</sub> с первых по третьи сутки наблюдается увеличенная масса тела и лишь к 5-7-м суткам вес животных приближается к показателям контроля. В условиях ингаляции  $\text{Xe}/\text{O}_2$  смеси у животных с этой моделью ОРДС с 3-их суток регистрировалось статистически значимое снижение массы тела.

Развитие ОРДС<sub>E.coli</sub> (диаграмма «Б» рисунок 14), 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  $\text{Xe}/\text{O}_2$  смеси.

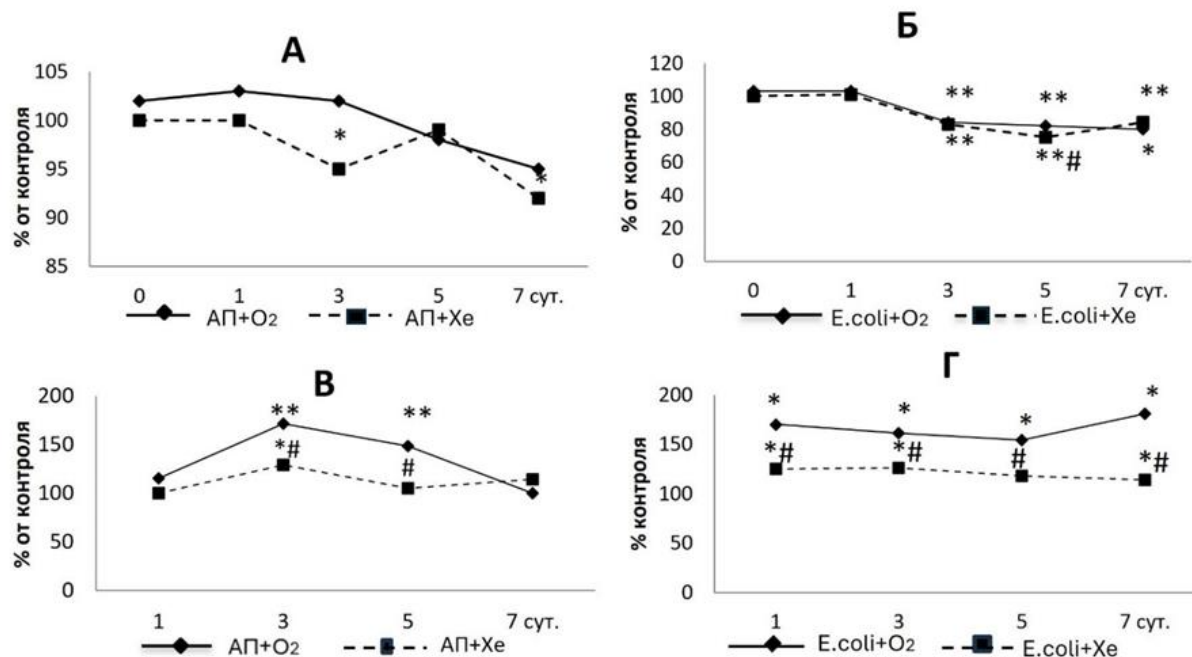


Рисунок 14 – Динамика показателей массы тела (А, Б) и массы легких (В, Г) животных на фоне развития различных моделей ОРДС

Здесь и на рисунке 15: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  по сравнению с контролем; # $p < 0.05$  по сравнению с животными получившими O<sub>2</sub>/воздушные ингаляции [адаптировано из 164]

Зарегистрированный феномен изменения массы тела животных в условиях развития изучаемых моделей ОРДС и при Xe/O<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» (рисунок 2) показывают динамику изменения массы лёгких. При ОРДС<sub>ап</sub> (график «В»), в первые сутки, как при O<sub>2</sub>/воздушной, так и при Xe/O<sub>2</sub> ингаляциях, изменения массы лёгких не выявлено, что объясняется спецификой повреждения, при котором начальные этапы воспалительного ответа наблюдается на уровне трахеобронхиального дерева. С 3-их по 5-е сутки исследования у животных с ОРДС<sub>ап+O<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.сoli</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.сoli+Хе</sub> была меньше таковой группы ОРДС<sub>Е.сoli+О2</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 15).

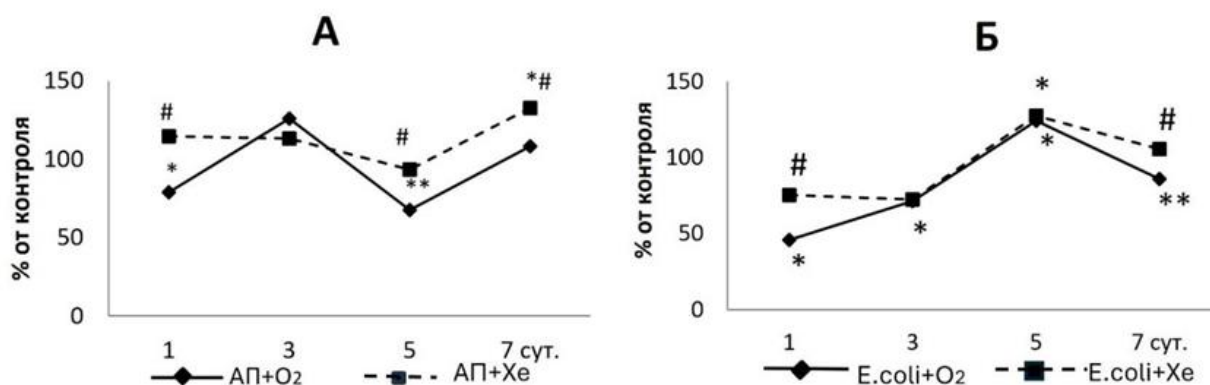


Рисунок 15 – Динамика показателя уровня АТ III на фоне развития ОРДС<sub>ап</sub> (А) и ОРДС<sub>Е.сoli</sub> (Б) в исследуемых группах [адаптировано из 164]

На графике «А» (Рисунок 15) 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+О2</sub> по отношению к контролю и таковому животных с ОРДС<sub>ап+Хе</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+О2</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» Рисунок 15), 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 ...» [164].

### **3.2 Исследование (*in silico*) механизма ксенон-индуцированного восстановления функциональной активности ЛС**

Некоторые результаты представляемых ниже *in silico* исследований нами опубликованы [100, 165]. При создании рабочей модели предполагаемого механизма взаимодействия Хе с инактивированным лёгочного сурфактанта, приводящим к восстановлению его функциональной активности, прежде всего учитывалось, что основным насыщенным фосфолипидом ЛС является дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ), два ацильных радикала которого являются остатками пальмитиновой кислоты (Рисунок 16).

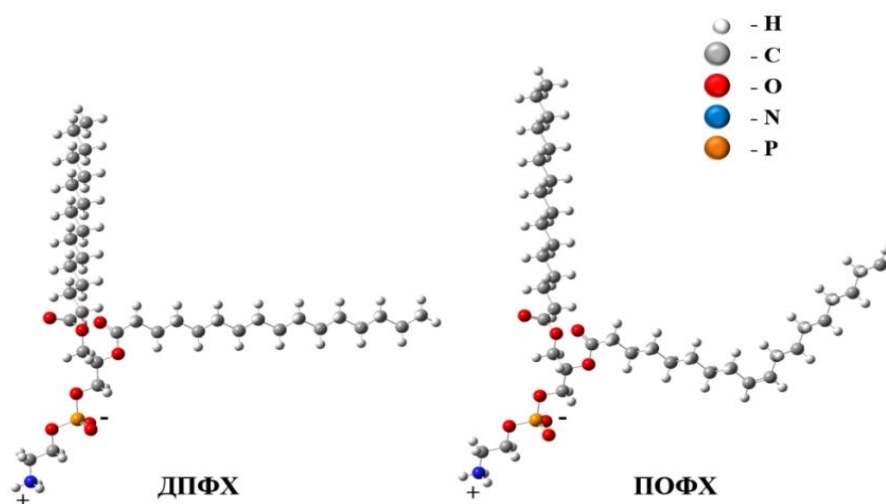


Рисунок 16 – Структура ДПФХ (1,2-Dipalmitoylglycerol-3-phosphorylcholine) и ПОФХ (1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine) [адаптировано из 100, 165]

В составе ЛС содержание ДПФХ достигает порядка 80 % масс. Именно этот фосфатидилхолин играет ключевую роль в обеспечении низких значений поверхностного натяжения в альвеолярной выстилке и снижении ПН с 72 мН/м до 20-25 мН/м [130]. Однако, температура фазового перехода твердое – жидкость для бислоёв ДПФХ составляет 41,5°C, поэтому следует ожидать, что ДПФХ, в составе агрегатов нефункционального ЛС, будет находиться в твердом состоянии, иначе говоря, молекулы фосфолипида будут характеризоваться низкой латеральной подвижностью.

Основной ненасыщенный ФЛ ЛС – пальмитоилолеоилфосфатидилхолин (ПОФХ) (Рисунок 16) имеет температуру плавления –3 °С. Поэтому для них

характерна способность к конформационной изомерии ацильных цепей по С–С-связям и цис-транс-изомерии по кратным связям [107, 55].

В общем случае, ацильные радикалы ФЛ представляют собой остатки жирных кислот, к которым атомарный ксенон должен иметь сродство, поскольку Хе обладает специфически высокой липофильностью (коэффициент распределения масло/вода равен 20). Например, в работе [51] для изучения биофизических и термодинамических эффектов ксенона на модельных липидных мембранах использовались вычислительные методы молекулярной динамики и экспериментальные методы дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Результаты компьютерного моделирования говорят о том, что атомы ксенона преимущественно локализованы в гидрофобном ядре липидного бислоя, а ДСК- анализ показал, что ксенон снижает температуру фазового перехода мембраны гель – жидкий кристалл, увеличивая текучесть мембраны. Поэтому мы выдвинули гипотезу о том, что биомишенью для ксенона являются гидрофобные остатки жирных кислот ФЛ в составе инактивированных агрегатов ЛС.

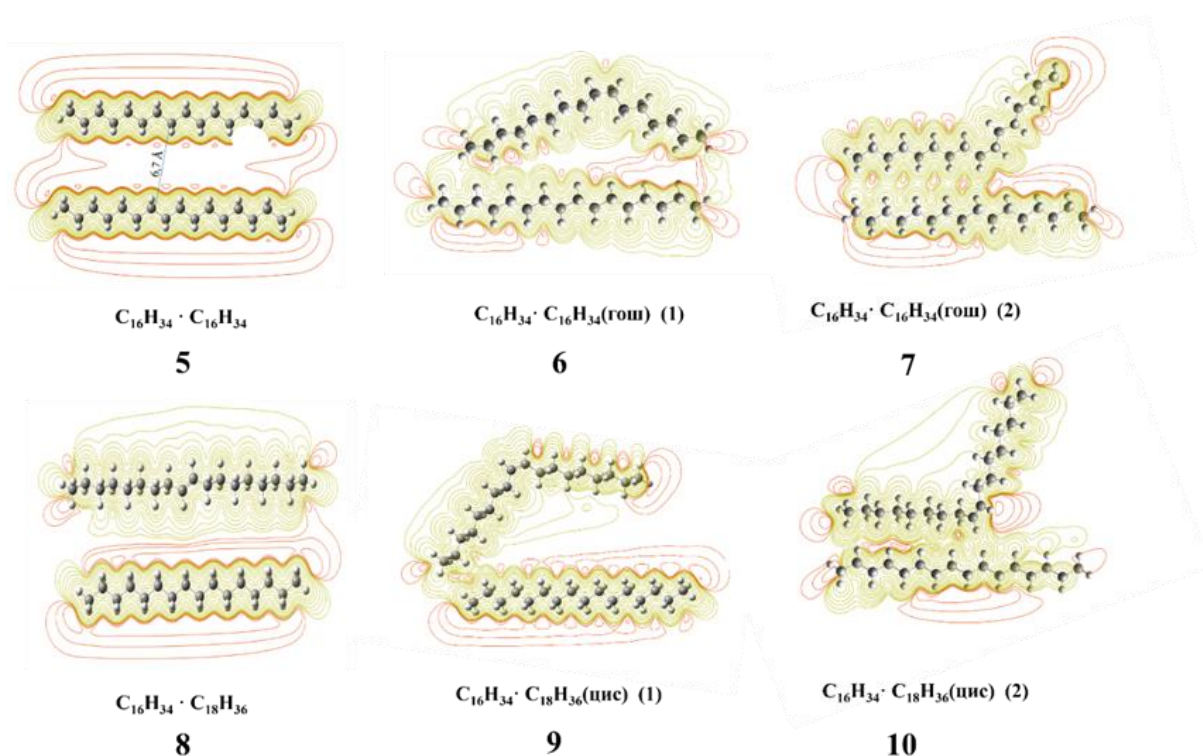


Рисунок 17 – Модельные системы агрегатов ФЛ нефункционального ЛС образованных: 5 - двумя молекулами алкана  $C_{16}H_{34}$  нормального строения

- 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)

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 17).

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. Геометрия модельных структур оптимизирована при температуре 310 К в газовой фазе и с учётом сольватации водой (Рисунок 17). Все структуры, кроме системы 5, являются устойчивыми, о чём говорит отсутствие отрицательных частот в их теоретических колебательных спектрах. Система 5, очевидно, является метастабильным состоянием, поскольку в её колебательном спектре отрицательные частоты присутствуют (-4.52; -4.33; -1.16 см<sup>-1</sup>). Влияние водного окружения мало влияет на геометрию и энергию рассматриваемых систем, что можно объяснить их высокой гидрофобностью.

Общая схема реакций для расчета изменения энергии Гиббса и энтальпии взаимодействия атомарного Хе с углеводородными молекулами различного состава  $[C_xH_{2x+n} \cdot C_yH_{2y+n}]$  представлена на рисунке 18.

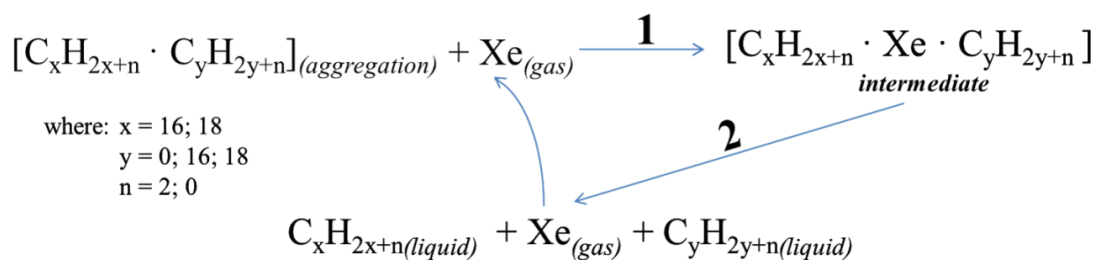


Рисунок 18 – Схема, иллюстрирующая процесс взаимодействия Хе с системами, моделирующими агрегаты ФЛ инактивированного ЛС различного состава [адаптировано из 165]

Реакция 1 показывает взаимодействие Хе с системой, которая может состоять из одной углеводородной молекулы ( $y=0$ ) алкана ( $x=16, n=2$ ) или алкена ( $x=18, n=0$ ), либо из двух углеводородов ( $y \neq 0$ ). В результате реакции 1 образуется промежуточное соединение (интермедиат) с общей формулой  $[C_xH_{2x+n} \cdot Xe \cdot C_yH_{2y+n}]$ , которое распадается по реакции 2 с образованием свободного атома Хе, поступающего в рецикл, и отдельных ацильных цепочек, чья латеральная подвижность, таким образом, восстанавливается. По сути, это схема перехода фосфолипидов из агрегированного состояния (*aggregation*) в жидкое состояние (*liquid*) под действием атомарного Хе (газ). Поскольку реальные условия среды (*in vivo*) не ясны, то расчёты  $\Delta G$  и  $\Delta H$  реакций проводились как для газовой фазы, так и с учётом сольватации (растворитель –  $H_2O$ ). Кроме того, рассматривается термохимия процессов с учётом того, что на практике используется не чистый ксенон, а Хе/ $O_2$  смесь двух газов. Значения изменений энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) в реакциях 1 и 2, рассчитанные для модельных систем соответствующего состава/строения представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Рассчитанные (B3LYP/lan12dz) величины изменения энергии Гиббса ( $\Delta G$ , kJ/mol) и энтальпии ( $\Delta H$ , kJ/mol) в последовательных реакциях образования (Реакция 1) и распада (Реакция 2) интермедиата Хе в системах, моделирующих агрегаты ФЛ инактивированного ЛС различного состава [адаптировано из 165]

№	Модельная система	Реакция 1				Реакция 2		Реакция 1 (H2O)				Реакция 2 (H2O)	
		$\Delta G(1)$		$\Delta H(1)$		$\Delta G(2)$	$\Delta H(2)$	$\Delta G(1)$		$\Delta H(1)$		$\Delta G(2)$	$\Delta H(2)$
		Xe	Xe/O2	Xe	Xe/O2			Xe	Xe/O2	Xe	Xe/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

Прежде всего, рассмотрим процессы с участием чистого Хе. 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. 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/O<sub>2</sub> 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.

При взаимодействии атомарного Хе с биомолекулами сложного состава (Рисунок 17) образуются интермедиаты, геометрия которых оптимизирована при температуре 310 К в газовой фазе и с учётом сольватации водой (Рисунок 19). Все структуры являются устойчивыми, о чём говорит отсутствие отрицательных частот в их теоретических колебательных спектрах. Влияние водного окружения, также, мало влияет на геометрию и энергию рассматриваемых интермедиатов.



Расчёт изменения энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) по реакциям (1) и (2) говорит о том, что в газовой фазе, в системах, состоящих из углеводородных молекул нормального строения (модельные системы 5 и 8), образование интермедиата по реакции 1 и его распад по реакции 2 являются термодинамически разрешёнными, поскольку соответствующие значения  $\Delta G(1)$  и  $\Delta G(2)$  меньше нуля (Таблице 6).

Так в системе 5,  $\Delta G(1)$  составило  $-24$  кДж/моль и тепловой эффект реакции ( $\Delta H$ ) около  $8$  кДж/моль, что говорит о самопроизвольном протекании данного эндотермического процесса. В системе 8 показано взаимодействие Хе с ацильными цепочками ПОФХ: остатками пальмитиновой кислоты нормального строения состава  $C_{16}H_{34}$  и элаидиновой кислоты (транс-изомер олеиновой кислоты)  $C_{18}H_{36}$  (Рисунок 19). Изменение свободной энергии Гиббса в реакции образования интермедиата составляет  $-4,5$  кДж/моль, а распада промежуточного соединения  $\Delta G(2) = -38,1$  кДж/моль.

В обоих случаях (системы 5 и 8) при образовании интермедиата ксенон встраивается в молекулярную структуру. В комплексе  $[C_{16}H_{34} \cdot Xe \cdot C_{18}H_{36}]$  (Рисунок 20) атом Хе поляризуется таким образом, что разрежение электронной плотности (синий цвет) формируется со стороны молекулы  $C_{18}H_{36}$  с положительным МЭП, а уплотнение электронной плотности (красный цвет) со стороны молекулы  $C_{16}H_{34}$  с отрицательным МЭП. Более интересная поляризация ксенона наблюдается в комплексе  $[C_{16}H_{34} \cdot Xe \cdot C_{16}H_{34}]$ . Обе молекулы  $C_{16}H_{34}$  имеют области отрицательного МЭП со стороны атома Хе. В результате Хе образует две области уплотнения и две области разрежения электронной плотности (Рисунок 20а).

Такая поляризация атома Хе, очевидно, приводит к отталкиванию одноимённых зарядов и разрушению интермедиатов по реакции 2. В результате образуются свободные углеводородные молекулы и атом ксенона.

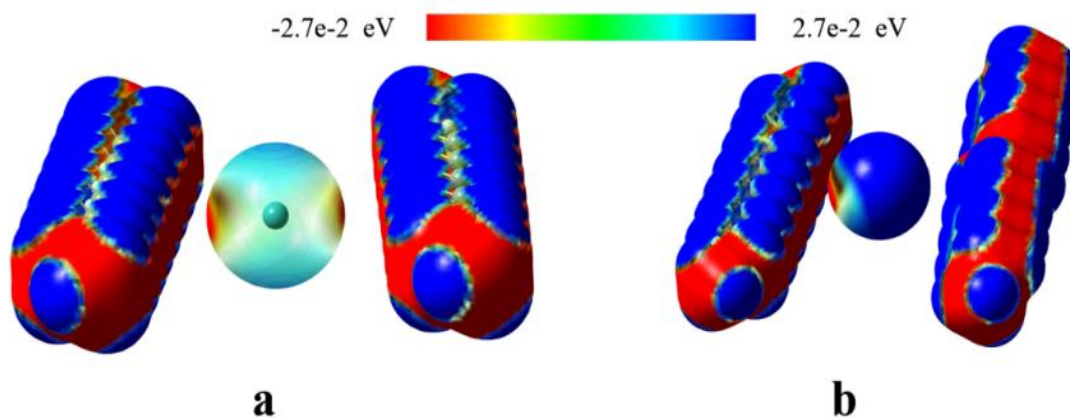


Рисунок 20 – Молекулярный электростатический потенциал, картированный на поверхности общей электронной плотности интермедиата (a)  $[C_{16}H_{34} \cdot Xe \cdot C_{16}H_{34}]$  и (b)  $[C_{16}H_{34} \cdot Xe \cdot C_{18}H_{36}]$

Последний может поступать в рецикл, что хорошо объясняет наблюдаемую терапевтическую эффективность даже кратковременных Xe/O<sub>2</sub> ингаляций при купировании постковидной вентиляционной недостаточности. Очевидно, атомарный Xe будет рециркулировать в лёгких, пока в альвеолах остаются агрегаты ФЛ ЛС.

Водное окружение на термодинамику процессов в системе 5 почти не влияет (значения  $\Delta G$ ,  $\Delta H$  меняются не значительно), поскольку гидрофобные предельные углеводороды очень слабо сольватируются водой. В системе с предельным углеводородом (системе 8)  $\Delta G(1)$  увеличивается до 35,0 кДж/моль, а  $\Delta G(2)$  снижается до -68,1 кДж/моль. Суммарный энергетический эффект данных последовательных реакций меньше нуля, что позволяет считать взаимодействие Xe с молекулярным комплексом  $C_{16}H_{34} \cdot C_{18}H_{36}$  в водном окружении, также, вероятным процессом.

В модельных системах 6, 7 и 9, 10 суммарный энергетический эффект двух последовательных реакций, без учёта сольватации водой, также, меньше нуля и соответственно составляет -34,6 кДж/моль; -38,6 кДж/моль; -34,0 кДж/моль; -40,1 кДж/моль.

Учёт сольватации (H<sub>2</sub>O) существенно не меняет термодинамический характер процессов образования и распада промежуточного комплекса

(Таблица 6), за исключением системы 10, в которой  $\Delta G(1)$  и  $\Delta G(2)$  больше нуля. Очевидно, образование такой системы в водном растворе маловероятно.

На практике используется не чистый ксенон, а смесь двух газов  $\text{Xe}/\text{O}_2$ . На рисунке 21 видно, что уже при межмолекулярном расстоянии в  $6,9 \text{ \AA}$  электронная плотность  $\text{Xe}$  смещена к кислороду, а на противоположной от  $\text{O}_2$  поверхности атома  $\text{Xe}$  формируется разряжение электронной плотности или эффективный положительный заряд.

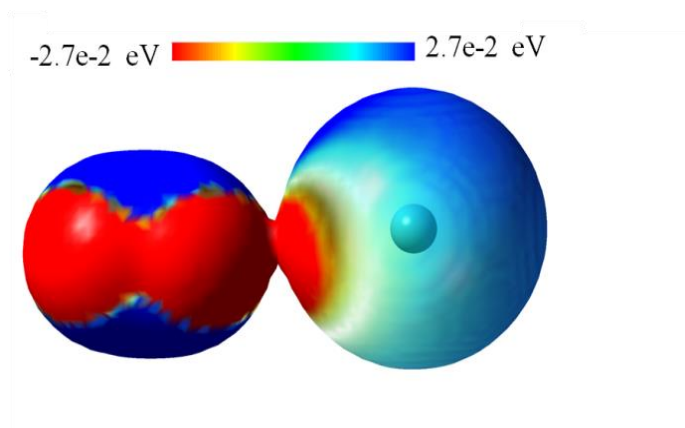


Рисунок 21 – Распределение молекулярного электростатического потенциала, картированного на поверхности общей электронной плотности молекул  $\text{O}_2$  и атома  $\text{Xe}$  расположенных на расстоянии  $6,9 \text{ \AA}$

Это должно обеспечивать более сильное ориентационное (Ван-дер-Ваальсовское) притяжение поляризованного  $\text{Xe}$  в областях отрицательного МЭП агрегированных органических молекул и благоприятно влиять на реакцию образования интермедиата Реакция 1 (Рисунок 22). Распад промежуточного соединения Реакция 2 останется без изменений (Рисунок 18). В таблице 6 видно, что присутствие кислорода снижает значения  $\Delta G(1)$  во всех случаях, особенно в системе 8 ( $\Delta G(1) = -366,3 \text{ кДж/моль}$ ). Отметим, что в водном окружении ( $\text{H}_2\text{O}$ ) это влияние  $\text{Xe}/\text{O}_2$  объясняется исключительно энтропийным фактором, поскольку изменения энтальпии  $\Delta H(1)_{\text{Xe}/\text{O}_2}$  по сравнению с  $\Delta H(1)_{\text{Xe}}$  почти не происходит.

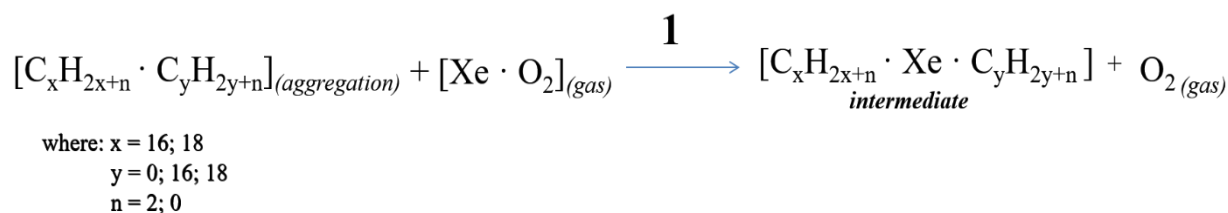


Рисунок 22 – Схема, иллюстрирующая процесс образования интермедиата (Реакция 1) с учётом поляризации атома Хе в составе Хе/О<sub>2</sub> ингаляционной газовой смеси

Кроме того, в водном окружении поляризованный ксенон (Хе/О<sub>2</sub>) может взаимодействовать с единичной молекулой С<sub>16</sub>Н<sub>34</sub>(гош) изомеризованного предельного углеводорода (ΔG(1) = -1,9 кДж/моль) с образованием устойчивого комплекса. Способность Хе образовывать клатраты с молекулами воды известна [19]. На рисунке 23 видно, что молекула С<sub>16</sub>Н<sub>34</sub>(гош) образует некую полость, в которой атом Хе образует парную область уплотнения/разуплотнения электронной плотности, а молекулы воды, надо полагать, достраивают такой кластер, делая структуру интермедиата устойчивой в водной среде.

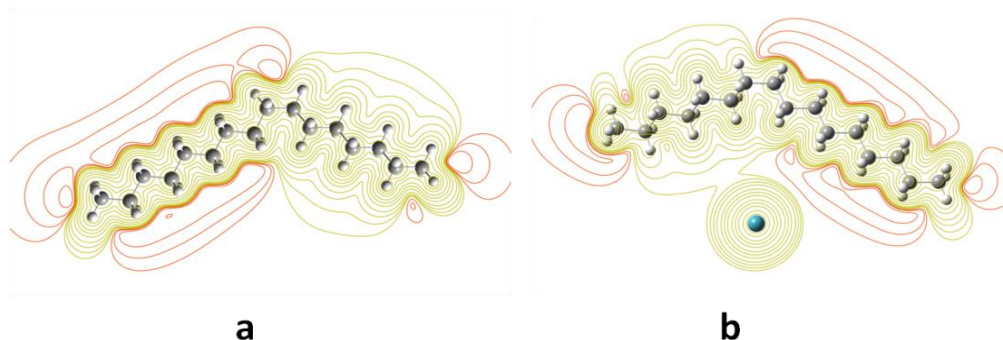


Рисунок 23 – Карта распределения МЭП: **(а)** молекулы С<sub>16</sub>Н<sub>34</sub> (гош); **(б)** в комплексе Хе · С<sub>16</sub>Н<sub>34</sub> (гош)

Очевидно, такая геометрия и электронная структура органической молекулы необходима для образования подобных соединений включения, когда атом Хе встраивается в структуру устойчивой молекулы или молекулярного комплекса.

Детальное рассмотрение природы такого взаимодействия выходит за рамки данной работы. Просто отметим, что ксенон, обладая завершённой

электронной конфигурацией внешнего уровня  $5s^25p^6$  и большими размерами атома, допускает перемещение  $5p$ - электронов, и далее  $5s$ - электронов на пустую  $5d$ - орбиталь. Это позволяет ксенону образовывать ковалентные соединения, где он проявляет различные степени окисления от (+1) до (+8). При образовании координационных соединений включения по типу «гость» - «хозяин» на незаполненной  $5d$ - орбитали атома Xe могут располагаться электроны органической молекулы, что объясняет склонность ксенона к областям отрицательного МЭП. Например, при образовании *p-t*-Butyl-calix(4)arene xenon clathrate [52] (Рисунок 24) видно, что полость молекулы *p-t*-Butyl-calix(4)arene (Рисунок 24а) характеризуется большой областью отрицательного МЭП (как в модельной системе 5) в которую и встраивается атом ксенона.

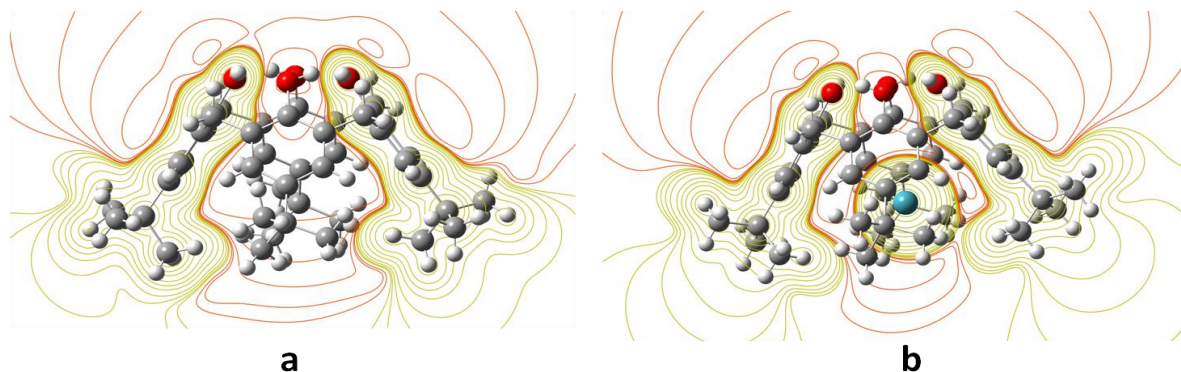


Рисунок 24 – **(a)** ESP map of the *p-t*-Butyl-calix(4)arene molecule; **(b)** ESP map of clathrate *p-t*-Butyl-calix(4)arene xenon (ILEZAA (CCDC) [52])

Таким образом, при развитии ОРДС нарушается способность ЛС поддерживать низкие значения ПН на границе воздух-вода, что определяется функционированием комплекса ФЛ и белков в его составе. Эффект восстановления поверхностной активности ФЛ под действием Хе, установленный в ряде клинических наблюдений, свидетельствует о наличии в легких больных ОРДС определенного пула сурфактантных ФЛ, которые, однако не способны образовывать поверхностно-активные пленки, ксенон восстанавливает это свойство ФЛ. Результаты исследования *in silico*

свидетельствуют о том, что специфической биологической мишенью для ксенона являются агрегаты ФЛ инактивированного ЛС. Атомы Хе поляризованные молекулами  $O_2$  в составе Хе/ $O_2$  газовой смеси достаточно эффективно взаимодействуют с такими агрегатами благодаря индукционным и ориентационным силам Ван-дер-Ваальса. О высокой вероятности такого механизма говорят результаты расчетов изменения энергии Гиббса. Водное окружение, в целом, незначительно влияет на рассматриваемые процессы. О природе взаимодействия говорит характер распределения молекулярного электростатического потенциала в модельных системах. Ксенон встраивается в структуру устойчивой молекулы или молекулярного комплекса агрегированных фосфолипидов подобно тому, как образуются клатратные соединения включения гость-хозяин. Особенности поляризации атомов Хе приводят к разрушению агрегатов ФЛ ЛС, благодаря отталкиванию одноименно (лучше одинаково) заряженных частиц. В результате восстанавливается латеральная подвижность фосфолипидов (текучесть), что обеспечивает функциональную активность пленок ЛС.

### **3.3 Сравнительное исследование (*in silico*) сурфактант-ориентированной активности благородных газов: He, Ne, Ar, Kr и Хе**

Для всех остальных не радиоактивных благородных газов (Ng) также было проведено изучение сурфактант-ориентированной активности, а именно для гелий (He), неона (Ne), аргона (Ar), криптона (Kr) в сравнении с ксеноном (Xe), в реакциях взаимодействия с молекулярной системой, моделирующей агрегаты инактивированного сурфактанта.

В качестве модельной молекулярной системы агрегата фосфолипидов сурфактанта была задействована система-5 молекул предельных углеводородных нормального строения (Рисунок 25), поскольку дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) является наиболее значимой

биологической мишенью в рассматриваемом механизме взаимодействия.

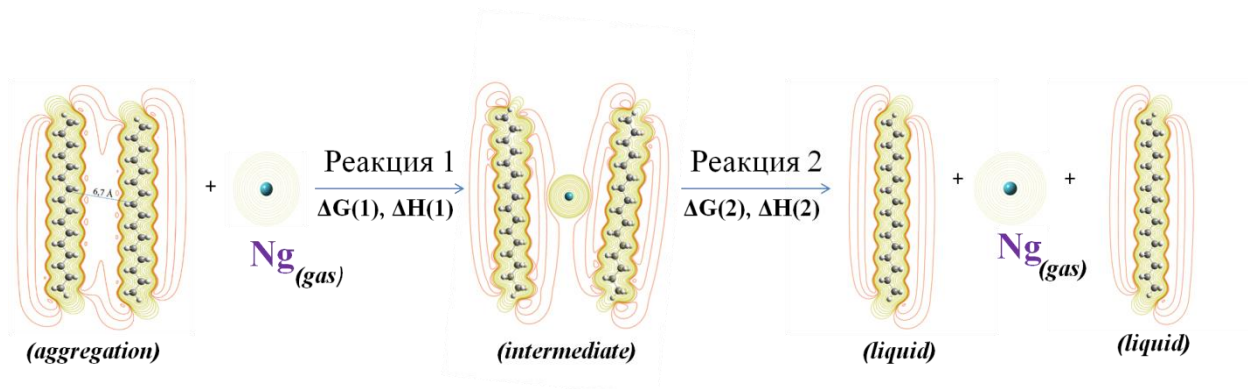


Рисунок 25 – Схема процесса взаимодействия атома Ng и гидрофобной составляющей агрегированных фосфолипидов ДПФХ

Значения изменений энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) и энтальпии ( $\Delta H$ ) в реакциях 1 и 2, рассчитанные для модельных систем благородных газов представлены в таблице 8. Важно заметить, что с использованием базисного набора lanl2dz невозможно рассчитать термодимические 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 термодимических параметров неона, аргона и криптона, что и позволяет провести сравнительный анализ активности всех газов.

Из данных, приведённых в таблице 8 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.

Таблица 7 – Рассчитанные методом DFT на уровне теории (B3LYP/lanl2dz) и/или (B3LYP/ 6-31g(d,p)) величины изменения энергии Гиббса ( $\Delta G$ , kJ/mol) и энтальпии ( $\Delta H$ , kJ/mol) в последовательных реакциях образования (Реакция 1) и распада (Реакция 2) интермедиатов Ng по общей схеме, представленной на Рисунке 25

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	-

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.

## 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 Хе в составе Хе/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 геморагий в тканях лёгких), имел место статистически значимый прирост массы лёгких ( $p < 0,01$ ) за счёт «затопления» альвеол.

3. Ингаляционное введение Хе в составе Хе/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 ЛС (дипальмитоилфосфатидилхолин, олеилдипальмитоилфосфатидилхолин), образованных предельными и непредельными углеводородами состава C<sub>16</sub>H<sub>34</sub> и C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>, показывает, что при их максимальном сближении (6-7 Å) происходит образование общих областей отрицательного МЭП, что объясняет потерю латеральной подвижности молекул и образование агрегатов ЛС.

5. По результатам ТФП-расчётов термодинамических 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 ЛС приводит к разрушению агрегатов, обеспечивая восстановление латеральной подвижности молекул фосфолипидов, что соответствует механизму реабилитации функционально активной плёнки ЛС, а освобождённый Хе может повторно вступать во взаимодействие с агрегатами ЛС.

8. Результаты ТФП-расчётов термодинамических параметров модельных процессов для Хе/O<sub>2</sub> газовой смеси демонстрируют усиление эффекта взаимодействия Хе и первичной мишени - агрегированных фосфолипидов ЛС в присутствии молекул O<sub>2</sub>, благодаря их поляризующему действию на его атомы.

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

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### 1. Ингаляционный аппарат САКИ-стационарный (ООО «Научная корпорация «Биогазсервис», Россия)



## 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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова Л.Г., Анисимов А.А. Патоморфологические изменения в случае ингаляции гелия: случай из экспертной практики / Л. Г. Александрова, А. А. Анисимов // Судебная медицина. 2021. – № 7(4). – С. 39–44.
2. Аспирационное острое повреждение легких (экспериментальное, морфологическое исследование) / А. М. Голубев, Ю. А. Городовикова, В. В. Мороз и др. // Общая реаниматология. 2008. – № 4. – С. 3–8.
3. Бобкина Н.В. Опыт применения подогретой кислородно-гелиевой смеси (обзор литературы) / Н. В. Бобкина // Инновационные научные исследования. 2021. – № 2–1(4). – С. 160–172.
4. Буров, Н. Е. Ксенон в медицине: прошлое, настоящее и будущее / Н. Е. Буров, И. В. Молчанов, Л. Л. Николаев // Клиническая практика. 2011. – № 2. – С. 3-11.
5. Буров, Н. Е. Ксенон в анестезиологии. Клинико-экспериментальные исследования / Н. Е. Буров, В. Н. Потапов, Г. Н. Макеев. – М.: Пульс, – 2000. – 300 с.
6. Буров. Н.Е. Представления о механизме анестезиологических и лечебных свойствах ксенона / Н. Е. Буров // Анестезиол. и реаниматол. 2011. – № 3. – С. 29-32.
7. Влияние термической гелий-кислородной смеси на вирусную нагрузку при COVID-19 / Л. В. Шогенова, С. Д. Варфоломеев, В. И. Быков и др. // Пульмонология. 2020. – № 30(5). – С. 533–543. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-533-543
8. Гемодинамика и функция миокарда при ксеноновой анестезии / Н. Е. Буров, Г. Г. Иванов, Д. А. Остапченко и др. // Анестезиол. и реаниматол. 1993. – № 5. – С. 57-59.
9. Динамика иммуноглобулинов и цитокинов под влиянием операции и анестезии ксеноном и закисью азота / И. З. Китиашвили, Н. Е. Буров, И. С.

Фрейлин, Е. В. Хрыкова // Вестник интенсивной терапии. 2005. – № 4. – С. 2-36.

10. Динамика клеточного иммунитета и цитокинов под влиянием анестезии ксеноном и закисью азота / И. З. Китиашвили, Н. Е. Буров, И. С. Фрейлин, Е. В. Хрыкова // Анестезиол. и реаниматол. 2005. – № 3. – С. 22-25.

11. Калашникова, С. А. Использование бактериального липополисахарида для моделирования патологических процессов в медико-биологических исследованиях (обзор литературы) / С. А. Калашникова, Л. В. Полякова // Вестник новых медицинских технологий. 2017. – № 24(2). – С. 209–219.

12. Ксенон в биологии и медицине / А. Н. Худяков, О. Н. Соломина, О. О. Зайцева, Т. В. Полежаева // Успехи современной биологии. 2017. – № 137(2). – С. 195–206.

13. Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие. ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» / А.Л. Берковский, Е. В. Сергеева, А. В. Суворов, и др. – М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2015. – 64 с. ISBN 978-5-7249-2441-2.

14. Модель фатального острого поражения легких и острого респираторного дистресс-синдрома / И. А. Помыткин, В. Н. Каркищенко, Ю. В. Фокин и др. // Биомедицина. 2020. – № 16 (4). – С. 24–33.

15. Патент № 2 660 075 Российская Федерация, МПК А01N 1/02 (2006.01), С12M 3/00 (2006.01). Способ хранения клеточных культур в суспензии : № 2017128728 : заявл. 11.08.2017: опубл. 05.07.2018 / Гольтязев М. В., Каурова С. А., Кобелев А. В., Уграицкая С. В., Фесенко Е. Е., Швирст Н. Э., Шишова Н. В., Яшин В. А. ; заявитель Российская Федерация, от имени которой выступает Фонд Перспективных Исследований – 14 с. : ил. – Текст : непосредственный.

16. Патент № 2 779 951 Российская Федерация, МПК А61М16/10 (2006.01), А61М16/12 (2006.01). Лечебные дыхательные смеси газов для поддержания жизнеспособности раненых с большой кровопотерей в условиях

переохлаждения и способ их применения : № 2020136163 : заявл. 02.11.2020 : опубл. 15.09.2022 / Петров В. А., Иванов А. О., Киндзерский А. В., Майоров И. В. ; заявитель Петров В. А., Иванов А. О., Киндзерский А. В., Майоров И. В. – 11 с. : ил. – Текст : непосредственный.

17. Патент № 2 752 856 Российская Федерация, МПК А61М16/12 (2006.01). Способ реабилитации поствирусных повреждений паренхимы легких и устройство для его осуществления : № 2020143999 : заявл. 28.12.2020 : опубл. 11.08.2021 / Удут В. В., Наумов С. А., Удут Е. В., Наумов С. С. ; заявитель Удут В. В., Наумов С. А. – 11 с. : ил. – Текст : непосредственный.

18. Патент № 2 271 815 Российская Федерация, МПК А61К 33/00 (2006.01), А61Р 43/00 (2006.01). Способ аутоанальгезии ксенон-кислородной смесью : № 2003133804 : заявл. 21.11.2003 : опубл. 20.03.2006 / Н. Е. Буров, А. А. Антонов. – 10 с. : ил. – Текст : непосредственный.

19. Получение клатратов ксенона в воде и исследование их свойств импульсным методом ЯМР / В. В. Родин, А. Н. Архангельский., Ф. С. Исангалин, В. Ю. Волков // Проблемы криобиологии и криомедицины. 1984 – № 14. – С. 8–11.

20. Применение ингаляции ксенонкислородной смеси в комплексной терапии тревожно-депрессивных расстройств. Сб. "Ксенон и инертные газы в медицине"/ В. В. Шурыгин, О. Т. Кутушев. – М.: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко. 2008. – С. 171– 177.

21. Применение сливочных и масляных ксеноновых коктейлей у онкологических больных. Сб. "Ксенон и инертные газы в медицине" / Л. Л. Николаев, Н. Е. Буров, В. Н. Потапов и др. – М.: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко. 2008. – С. 79–86.

22. Ращупкин, А. Б. Изменения центральной гемодинамики при анестезии ксеноном и закисью азота у больных с компрометированной сердечно-сосудистой системой / А. Б. Ращупкин, Н. Е. Буров // Клин. анестезиол. и реаниматол. 2006. – № 3(4). – С. 47-52.

23. Сальников, П. С. Сравнительная оценка "церебральной оксиметрии" при анестезии ксеноном и другими анестетиками / П. С. Сальников, Н. Е. Буров // Анестезиол. и реаниматол. 2003. – № 3. – С. 35-37.

24. Сурфактантная система при туберкулезе легких / В. В. Ерохин, Л. Н. Лепеха, М. В. Ерохина, О. В. Ловачева. – М.: ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН, – 2013. – 265 с.

25. Хадарцев, А. А. Возможности гелий-кислородной терапии пневмоний при короновирусной инфекции (обзор) / А. А. Хадарцев, С. С. Киреев, Д. В. Иванов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2020. – № 3. – 6 с.

26. Чьонг, Т. Т. Использование гелий-кислородной смеси при респираторных заболеваниях / Т. Т. Чьонг, Л. В. Шогенова // Практическая пульмонология. 2021. – № 1. – С. 74–79.

27. Шогенова, Л. В. Эффекты термической гелий-кислородной смеси на транспорт кислорода, центральную и легочную гемодинамику у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких с гиперкапнической острой дыхательной недостаточностью / Л. В. Шогенова, А. Г. Чучалин, А. А. Панин // Пульмонология. 2020. – № 30(4). – С. 421–426.

28. Экспериментальная станция «Микрофокус» / С. В. Ращенко, А. И. Семерикова, А. В. Романенко и др. // Технологическая инфраструктура «СКИФ». Том I. Экспериментальные станции первой очереди и Лабораторный комплекс / Под ред. Я. В. Зубавичус – Новосибирск: Электронное издание: ФГБУН «ФИЦ «Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН». 2022. – 311 с. ISBN 978-5-906376-40-4. ISBN 978-5-906376-41-1. URL: <https://srf-skif.ru/index.php/>

29. Эффективность использования кислородно-гелиевой смеси в интенсивной терапии пневмоний у взрослых пациентов: систематический обзор и метаанализ / Р. Е. Лахин, П. А. Шаповалов, А. В. Щёголев и др. // Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова. 2022. – № 2. – С. 52–69.

30. A case of xenon inhalation therapy for respiratory Failure and neuropsychiatric disorders Associated with covid-19 / V. V. Udut, S. A. Naumov, D. N. Evtushenko [et al.] // EXCLI Journal. 2021. – Vol. 28, N 20. – P. 1517–1525.
31. A model for the structure and mechanism of action of pulmonary surfactant protein B / B. Olmeda, B. Garcia-Alvarez, M. J. Gomez [et al.] // FASEB J. – 2015. – Vol. 29. – P. 4236–4247.
32. A Model of Fatal Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome / I. A. Pomytkin, V. N. Karkischenko, Yu. V. Fokin, [et al.] // Journal Biomed. 2020. – Vol. 16, N 4. – P. 24–33.
33. Abdulamir, A. S. The possible immunological pathways for the variable immunopathogenesis of COVID-19 infections among healthy adults, elderly and children / A.S. Abdulamir, R. R. Hafidh // Electron J Gen Med 2020. – Vol. 17, N 4. – P. e202.
34. Acute Lung Injury: How to stabilize a Broken Lung / G. F. Nieman, P. Andrews, J. Satalin [et al.] // Crit. Care. 2018. – Vol. 22. – P. 1–11.
35. Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: A Literature Review / M. Hussain, S. S. Khurram, M. Fatima [et al.] // J Inflamm Res. 2021. – Vol. 14. – P. 7225-7242.
36. Alsharif, W. Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review / W. Alsharif, A. Qurashi // Radiography (Lond). – 2021. – Vol. 27. – P. 682–687.
37. Alternative motifs for halogen bonding / R. W. Troff, T. Makela, F. Topic [et al.] // Eur. J. Org. Chem. 2013. – P. 1617–1637.
38. Anesthetic Alterations of Collective Terahertz Oscillations in Tubulin Correlate with Clinical Potency: Implications for Anesthetic Action and Post-Operative Cognitive Dysfunction / T. J. A. Craddock, P. Kurian, J. Preto [et al.] // Sci. Rep. 2017. – Vol. 7. P. 1–12.
39. Anesthetics Act in Quantum Channels in Brain Microtubules to Prevent Consciousness / J. A. C. Travis, R. H. Stuart, T. A. Ahmed [et al.] // Curr. Top. Med. Chem. 2015. – Vol. 15. – P. 523–533.

40. Arcario, M. Atomistic Models of General Anesthetics for Use in in Silico Biological Studies / M. Arcario, C. G. Mayne, E. Tajkhorshid // *J. Phys. Chem. B* 2014. – Vol. 118. – P. 12075–12086.
41. Ardell, S. Animal derived surfactant extract versus protein free synthetic surfactant for the prevention and treatment of respiratory distress syndrome / S. Ardell, R. H. Pfister, R. Soll // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015. – e8:CD000144.
42. Asly, M. Rehabilitation of post-COVID-19 patients / M. Asly, A. Hazim // *Pan Afr. Med J.* 2020. – Vol. 36. – P. 168–173.
43. Assessment of Pulmonary Surfactant in COVID-19 Patients / P. Schousboe, L. Wiese, C. Heiring [et al.] // *Crit. Care.* 2020. – Vol. 24. – P. 4–5.
44. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom [et al.] // *J Comput Chem.* 2009. – Vol. 30. – P. 2785-2791.
45. Babcock, N. S. Electron—Electron Dipolar Interaction Poses a Challenge to the Radical Pair Mechanism of Magnetoreception / N. S. Babcock, D. R. Kattinig // *J. Phys. Chem. Lett.* 2020. – Vol. 11. – P. 2414–2421.
46. Badua, C. L. D. C. Genomic and proteomic mutation landscapes of SARS-CoV-2 / C. L. D. C. Badua, K. A. T. Baldo, P. M. B. Medina // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93. – P. 1702–1721.
47. Barone, V. Characterization of the potential energy surface of the HO<sub>2</sub> molecular system by a density functional approach / V. Barone // *J. Chem. Phys.* 1999. – Vol. 111. – P. 10666-10676.
48. Barone, V. Cossi M., Tomasi J. A new definition of cavities for the computation of solvation free energies by the polarizable continuum model / V. Barone // *J. Chem. Phys.* 1997. Vol. 107. – P. 3210-3221.
49. Barone, V. Cossi M., Tomasi J. Geometry optimization of molecular structures in solution by the polarizable continuum model / V. Barone // *J. Comp. Chem.* 1998. – Vol. 19, N 4. – P. 404– 417.

50. Bauzá, A. The Bright Future of Unconventional  $\sigma/\pi$ -Hole Interactions / A. Bauzá, T. J. Mooibroek., A. Frontera // *ChemPhysChem*. 2015. – Vol. 16. – P. 2496–2517.
51. Booker, R. D. Biophysical changes induced by xenon on phospholipid bilayers / R. D. Booker, A. K. Sum // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013. – Vol. 1828. – P. 347–1356.
52. CCDC 221010: Experimental Crystal Structure Determination / G. D. Enright, K. A. Udachin, I. L. Moudrakovski, J. A. Ripmeester // Unknown Publisher. 2004.
53. Characteristic features of the novel coronavirus infection covid-19 in oncohematological patients / N. A. Romanenko, E. R. Shilova, L. V. Stelmashenko [et al.] // *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice*. – 2023. – Vol. 16, N 1. – P. 101–108.
54. Clinical utility of the Epworth sleepiness scale / N. A. Walker, J. Sunderram, P. Zhang [et al.] // *Sleep Breath*. 2020. – Vol. 24. – P. 1759–1765.
55. Cochrane, C. G. Pulmonary surfactant protein B (SP-B): structure-function relationships / C. G. Cochrane, S. D. Revak // *Science*. 1991. – Vol. 254. – P. 66–568.
56. Colling, M. E. COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms / M. E. Colling, Y. Kanthi // *Vasc. Med*. – 2020. – Vol. 25. – P. 471–478.
57. COVID-19 and SARS-Cov-2 infection: Pathophysiology and clinical effects on the nervous system / H. Abboud, F. Z. Abboud, H. Kharbouch [et al.] // *World Neurosurg*. 2020. – Vol. 140. – P. 49–53.
58. COVID-19-related thrombosis: new experiences and challenges of thrombotic complications arising from the pandemic / P. G. Madonov, A. P. Momot, E. V. Roitman, V. V. Udut // *Tromboz, gemostaz and reologiya*. 2023. – Vol. 2. – P. 59–66.

59. Cukras, J. Towards Quantum-Chemical Modeling of the Activity of Anesthetic Compounds / J. Cukras, J. Sadlej // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. – Vol. 22. – P. e9272.
60. Cullen, S. C. The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton / S. C. Cullen, E. G. Gross. *Science* // 1951. – Vol. 113. – P. 580–582.
61. Current perspectives in pulmonary surfactant–inhibition, enhancement and evaluation / Y. Y. Zuo, R. A. Veldhuizen, A. W. Neumann [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. – Vol. 1778. – P. 1947–1977.
62. Decoding the rich biological properties of noble gases: how well can we predict noble gas binding to diverse proteins? / D. A. Winkler, I. Katz, G. Farjot [et al.] // *ChemMedChem.* 2018. – Vol. 13. – P. 1931–1938.
63. Defining the role of NMDA receptors in anesthesia: Are we there yet? / A. B. Petrenko, T. Yamakura, K. Sakimura, H. Baba // *Eur. J. Pharmacol.* 2014. – Vol. 723. – P. 29–37.
64. Dennington R., Keith T.A., Millam J.M. GaussView 6.0. 16. Semichem Inc., Shawnee Mission. 2016.
65. Diffusive nature of Xenon Anesthetic Changes Properties of a Lipid Bilayer: Molecular Dynamics Simulations / E. Yamamoto, T. Akimoto, H. Shimizu [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* 2012. – Vol. 116. – P. 8989–8995.
66. Disruption of Magnetic Compass Orientation in Migratory Birds by Radiofrequency Electromagnetic Fields / H. G. Hiscock, H. Mouritsen, D. E. Manolopoulos, P. Hore // *Biophys. J.* 2017. – Vol. 113. – P. 1475–1484.
67. Dunning, T. H. Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations / T. H. Dunning, Jr., P. J. Hay // *Modern Theoretical Chemistry.* 1977. – Vol. 3. – P. 1-27.
68. Exogenous pulmonary surfactant for the treatment of adult patients with acute respiratory distress syndrome: results of a meta-analysis / W. J. Davidson, D. Dorscheid, R. Spragg [et al.] // *Crit Care.* 2006. – Vol. 10, N 2. – P. 41–46.

69. Exploiting the Fruitfly, *Drosophila melanogaster*, to Identify the Molecular Basis of Cryptochrome-Dependent Magnetosensitivity / A. Bradlaugh, A. L. Munro, A. R. Jones, R. A. Baines // *Quantum Rep.* 2021. – Vol. 3. P. 127–136.

70. Exploring the Effects on Lipid Bilayer induced by Noble Gases via Molecular Dynamics Simulations / J. Chen, L. Chen, Y. Wang [et al.] // *Sci. Rep.* 2015. – Vol. 5. P. e17235.

71. Follow-up study of the pulmonary function and related physiological characteristics of COVID-19 survivors three months after recovery / Y. M. Zhao, Y. M. Shang, W. B. Song [et al.] // *EClinicalMedicine.* – 2020. – Vol. 25. – P. 100463.

72. Frisch, M.J. Gaussian 09 Programmer's Reference. Gaussian. 2009.

73. Frontera, A. Noble gas bonding interactions involving xenon oxides and fluorides / A. Frontera // *Molecules.* 2020. – Vol. 25. – P. 3419.

74. Functional disorders of the respiratory system after a new coronavirus infection COVID-19 / O. I. Savushkina, A. A. Zaicev, E. V. Kryukov [et al.] // *Russian Military Medical Academy Reports.* – 2022. Vol. 41, N 3. – P. 316–323.

75. Gas transport during in vitro and in vivo preclinical testing of inert gas therapies / I. Katz, M. Palgen, J. Murdock [et al.] // *Med Gas Res.* 2016. – Vol.6. P. 14–19.

76. George, P. M. Pulmonary fibrosis and COVID-19: the potential role for antifibrotic therapy / P. M. George, A. U. Wells, R. G. Jenkins // *Lancet Respir. Med.* – 2020. Vol. 8. – P. 807–815.

77. Halogen bonding in supramolecular chemistry / L. C. Gilday, S. W. Robinson, T. A. Barendt [et al.] // *Chem. Rev.* 2015. – Vol. 115. – P. 7118–7195.

78. Han, S. The Role of Surfactant in Lung Disease and Host Defense against Pulmonary Infections / S. Han, R. K. Mallampalli // *Ann. ATS.* 2015. – Vol. 12. – P. 765–774.

79. Hay P. J. Ab initio effective core potentials for molecular calculations — potentials for K to Au including the outermost core orbitals / P. J. Hay, W. R. Wadt // *J. Chem. Phys.* 1985. – Vol. 82, N 1. – P. 299-310.

80. Hay, P. J. Ab initio effective core potentials for molecular calculations — potentials for the transition-metal atoms Sc to Hg / P. J. Hay, W. R. Wadt // J. Chem. Phys. 1985. – Vol. 82, N 1. – P. 270- 283.

81. Identifying medically relevant xenon protein targets by *in silico* screening of the structural proteome / D. A. Winkler, I. Katz, A. Warden [et al.] // Med Gas Res. 2023. – Vol. 13, N 1. – P. 33–38.

82. Immune evasion of SARS-CoV-2 emerging variants: what have we learnt so far? / I. Lazarevic, V. Pravica, D. Miljanovic, M. Cupic // Viruses. – 2021. – Vol. 13, N 7. – P. 1192.

83. Inhibition of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase attenuates lung-kidney crosstalk induced by intratracheal lipopolysaccharide instillation in rats / M. Kh. H. Si, Ch. Mitaka, M. Tulafu [et al.] // Respiratory Research. 2013. – Vol. 14. – P. 126–133.

84. Insomnia during the COVID-19 pandemic in a Greek population / P. Voitsidis, I. Gliatas, V. Bairachtari [et al.] // Psychiatry Res. 2020. – Vol. 289. – P. e113076.

85. Ishutsina, O.V. The surfactant system of the lungs: A Literature Review / O. V. Ishutsina // Vestnik VGMU. 2021. – Vol. 20. – P. 7-17.

86. Kolář, M. H. Computer Modeling of Halogen Bonds and Other  $\sigma$ -Hole Interactions / M. H. Kolář, P. Hobza // Chem. Rev. 2016. – Vol. 116. – P. 5155–5187.

87. Leading Interaction Components in the Structure and Reactivity of Noble Gases Compounds / F. Nunzi, G. Pannacci, F. Tarantelli [et al.] // Molecules 2020. – Vol. 25. P. e2367.

88. Lee, A. Using reverse docking for target identification and its applications for drug discovery / A. Lee, K. Lee, D. Kim // Expert Opin rug Discov. 2016. – Vol.11. P. 707–715.

89. Legon, A.C. Tetrel, pnictogen and chalcogen bonds identified in the gas phase before they had names: A systematic look at non-covalent interactions / A. C. Legon // Phys. Chem. Chem. Phys. 2017. – Vol. 19. – P. 14884–14896.

90. Lewis, J. F. The Role of Exogenous Surfactant in the Treatment of Acute Lung Injury (Review) / J. F. Lewis, R. Veldhuizen // *Annual Review of Physiology*. 2003. – Vol. 65. – P. 613-642.
91. Li, Y. C. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients / Y. C. Li, W. X. Bai, T. Hashikawa // *J. Med. Virol.* 2020. – Vol. 92. – P. 552-557.
92. Liu, L.T. Mechanistic Insights into Xenon Inhibition of NMDA Receptors from MD simulations / L. T. Liu, Y. Xu, P. Tang // *J. Phys. Chem. B*. 2010. – Vol. 114. – P. 9010–9016.
93. Lopez-Rodriguez, E. Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: from biophysics to therapy / E. Lopez-Rodriguez, J. Perez-Gil // *Biochim. Biophys. Acta*. 2014. – Vol. 1838. – P. 1568–1585.
94. Majumder, J. Recent developments on therapeutic and diagnostic approaches for COVID-19 / J. Majumder, T. Minko // *AAPS J.* – 2021. – Vol. 23, N 1. – P. 14.
95. Marian, A. J. Current state of vaccine development and targeted therapies for COVID-19: impact of basic science discoveries / A. J. Marian // *Cardiovasc Pathol.* – 2021. – Vol. 50. – P. 107278.
96. Martínez-Gil, L. The surfactant peptide KL4 sequence is inserted with a transmembrane orientation into the endoplasmic reticulum membrane / L. Martínez-Gil, J. Pérez-Gil, I. Mingarro // *Biophys. J.* 2008. – Vol. 95, N 6. – P. 36–38.
97. Massive in silico study of noble gas binding to the structural proteome / D. A. Winkler, A. C. Warden, T. Prangé [et al.] // *J Chem Inf Model*. 2019. – Vol. 59. P. 4844–4854.
98. Maze M, Laitio T. Neuroprotective Properties of Xenon / M. Maze, T. Laitio // *Mol Neurobiol*. 2020. – Vol. 57. P. 118–124.
99. Maze, M. Neuroprotective properties of xenon / M. Maze, T. Laitio // *Mol. Neurobiol*. 2020. – Vol. 57. – P. 118–124.
100. 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 [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022. – Vol. 172, N 3. P. 364-367.

101. Mescher, A. L. *Junqueira's Basic Histology: text and atlas* / A. L. Mescher. – New York: McGraw Hill Medical, 2013. – P. 797.

102. Miesbach, W. COVID-19: Coagulopathy, risk of thrombosis, and the rationale for anticoagulation / W. Miesbach, M. Makris // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* – 2020. – Vol. 26. – P. e1076029620938149.

103. Mirastschijski, U. Lung Surfactant for Pulmonary Barrier Restoration in Patients with COVID-19 Pneumonia / U. Mirastschijski, R. Dembinski, K. Maedler // *Front. Med.* 2020. – Vol. 7. – P. 1–4.

104. Molecular dynamics simulation study of the effect of halothane on mixed PPC/DPPE phospholipid membranes / J. A. Arvayo-Zatarain, F. Favela-Rosales, C. Contreras-Aburto [et al.] // *J. Mol. Model.* 2018. – Vol. 25, N 1. – P. e4.

105. Noble gas neuroprotection: Xenon and argon protect against hypoxic–ischaemic injury in rat hippocampus in vitro via distinct mechanisms / M. Koziakova, K. Harris, C. J. Edge [et al.] // *Br. J. Anaesth.* 2019. – Vol. 123. – P. 601–609.

106. Nuclear spin Attenuates the Anesthetic Potency of Xenon Isotopes in Mice / N. Li, D. Lu, L. Yang [et al.] // *Anesthesiology*. 2018. – Vol. 129. – P. 271–277.

107. Olmeda, B. Pulmonary surfactant metabolism in the alveolar airspace: biogenesis, extracellular conversions, recycling / B. Olmeda, M. Martinez-Calle, J. Perez-Gil // *Ann. Anat.* 2017. – Vol. 209. – P. 78–92.

108. Oxygen therapy for exercise capacity in fibrotic interstitial lung disease: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / L-Y. Lin, Y-C. Wu, J-S. Wu [et al.] // *Respiratory Medicine*. 2024. – Vol. 227. – P. 107657.

109. Parra, E. Composition, structure and mechanical properties define performance of pulmonary surfactant membranes and films / E. Parra, J. Perez-Gil // *Chem. Phys. Lipids*. 2015. – Vol. 185. – P. 153–175.

110. Partitioning, dynamics, and orientation of lung surfactant peptide KL(4) in phospholipid bilayers / J. R. Long, F. D. Mills, O. K. Ganesh [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta*. 2010. – Vol. 1798. – P. 216–222.
111. Penetration depth of surfactant peptide KL4 into membranes is determined by fatty acid saturation / V. C. Antharam, D. W. Elliott, F. D. Mills [et al.] // *Biophys. J.* 2009. – Vol. 96. – P. 4085–4098.
112. Perez-Gil, J. Pulmonary surfactant pathophysiology: current models and open questions / J. Perez-Gil, T. E. Weaver // *Physiology (Bethesda)*. 2010. – Vol. 5. – P. 132–141.
113. Pérez-Gil, J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: The role of proteins and lipid–protein interactions / J. Pérez-Gil // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2008. – Vol. 1778. – P. 1676–1695.
114. Pharmacological Management of COVID-19 Patients with ARDS (CARDS): A Narrative Review / M. G. Matera, P. Rogliani, L. Calzetta, M. Cazzola // *Respir. Med.* 2020. – Vol. 171. – P. e106114.
115. Pickholz, M. Concentration Effects of Volatile Anesthetics on the Properties of Model Membranes: A Coarse-Grain Approach. *Biophys* / M. Pickholz, L. Saiz, M. L. Klein // *J.* 2005. – Vol. 88. – P. 1524–1534.
116. Politzer, P. Halogen bonding and other  $\sigma$ -hole interactions: A perspective / P. Politzer, J. S. Murray, T. Clark // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013. – Vol. 15. – P. 11178–11189.
117. Politzer, P. Halogen bonding: An electrostatically-driven highly directional noncovalent interaction / – P. Politzer, J. S. Murray, T. Clark // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010. – Vol. 12. – P. 7748–7757.
118. Politzer, P. Halogen bonding: An interim discussion / P. Politzer, J. S. Murray // *ChemPhysChem*. 2013. – Vol. 14. – P. 278–294.
119. Post-COVID-19 pneumonia pulmonary fibrosis / S. Tale, S. Ghosh, S. P. Meitei [et al.] // *QJM*. – 2020. – Vol. 113. – P. 837–845.

120. Post-pandemic respiratory infection trends among Northern Chinese children: Challenges and responses / K. Wanga, Z. Lv, S. Lib, Yi. H // *Pulmonology*. – 2024. Vol. 30. – P. 419–421.

121. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic / J. P. Rogers, E. Chesney, D. Oliver [et al.] // *Lancet Psychiatry*. – 2020. Vol. 7. – P. 611–627.

122. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic / J. P. Rogers, E. Chesney, D. Oliver [et al.] // *Lancet Psychiatry*. 2020. – Vol. 7. – P. 611-627.

123. Psychological status of medical workforce during the COVID-19 pandemic: A cross-sectional study / W. Lu, H. Wang, Y. Lin, L. Li. // *Psychiatry Res*. 2020. – Vol. 288. P. e112936.

124. Radical pairs may play a role in xenon-induced general anesthesia / J. Smith, H. Z. Haghghi, D. Salahub, C. Simon // *Sci. Rep*. 2021. – Vol. 11. P. 1–13.

125. Rehabilitation of patients postCOVID-19 infection: a literature review / A. Demeco, N. Marotta, M. Barletta [et al.] // *J Int Med Res*. 2020. – Vol. 48(8): 300060520948382.

126. Respiratory Rehabilitation of COVID-19 Patients: Current State of the Problem / K. V. Petrov, E. Yu. Mozheyko, A. V. Petrov, I. V. Demko // *Pulmonology*. – 2023. – Vol. 22, N 2. – P. 70–75.

127. Restoring Pulmonary Surfactant Membranes and Films at the Respiratory Surface / M. Echaide, C. Autilio, R. Arroyo, J. Perez-Gil // *Biochim. Biophys. Acta (Bba) – Biomembranes*. 2017. – Vol. 1859. P. 1725–1739.

128. Retest positive for SARS-CoV-2 RNA of "recovered" patients with COVID-19: Persistence, sampling issues, or re-infection? / H. Kang, Y. Wang, Y. Tong, X. Liu // *J. Med. Virol*. – 2020. – Vol. 92. – P. 2263–2275.

129. Role of computed tomography in COVID-19 / G. Pontone, S. Scafuri, M. E. Mancini [et al.] // *J. Cardiovasc. Comput. Tomogr*. – 2021. – Vol. 15. – P. 27–36.

130. Rosenberg, O. A. Lung Surfactant and Its Use in Lung Diseases / O. A. Rosenberg // *General Reanimatology*. 2007. – Vol. 3, N 1. – P. 66–77.

131. Rostami, M. D-dimer level in COVID-19 infection: a systematic review / M. Rostami, H. Mansouritorghabeh // *Expert. Rev. Hematol.* – 2020. Vol. 13. – P. 1265– 1275.

132. Segregated ordered lipid phases and protein-promoted membrane cohesivity are required for pulmonary surfactant films to stabilize and protect the respiratory surface / J. Bernardino de la Serna, R. Vargas, V. Picardi [et al.] // *Faraday Discuss.* – 2013. Vol. 161. – P. 535–589.

133. Sepehrinezhad, A. COVID-19 virus may have neuroinvasive potential and cause neurological complications: a perspective review / A. Sepehrinezhad, A. Shahbazi, S. S. Negah // *J. Neurovirol.* 2020. – Vol. 26. – P. 324-329.

134. Serum surfactant protein D in COVID-19 is elevated and correlated with disease severity / M. Tong, Y. Xiong, C. Zhu [et al.] // *BMC Infect Dis.* – 2021. Vol. 21, N 1. – P. 737.

135. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARSCoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges / C. C. Lai, T. P. Shih, W. C. Ko [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2020. – Vol. 55, N 3. – P. 105924.

136. Six month mortality in patients with COVID-19 and non-COVID-19 viral pneumonitis managed with veno-venous extracorporeal membrane oxygenation / B. Garfield, P. Bianchi, D. Arachchillage [et al.] // *ASAIO J.* – 2021. – Vol. 67. – P. 982– 988.

137. Six-month survival after extracorporeal membrane oxygenation for severe COVID-19 / F. Biancari, G. Mariscalco, M. Dalén [et al.] // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* – 2021. – Vol. 35. – P. 1999–2006.

138. SP-A and SP-D surfactant proteins and conventional risk factors for chronic non-infectious human diseases / K. Yu. Nikolaev, O. S. Kharlamova, I. A. Kosarev [et al.] // *Siberian scientific medical journal.* 2023. – Vol. 43, N 3. – P. 28–38.

139. Sreepadmanabh, M. COVID-19: Advances in diagnostic tools, treatment strategies, and vaccine development / M. Sreepadmanabh, A. K. Sahu, A. Chande // *J. Biosci.* – 2020. – Vol. 45, N 1. – P. 148.

140. Standalone portable xenon- 129 hyperpolariser for multicentre clinical magnetic resonance imaging of the lungs / G. Norquay, G. J. Collier, O. I. Rodgers // *Br J Radiol.* 2022. – Vol. 95. – P. e(1132):20210872.

141. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. / Q. Wang, Y. Zhang, L. Wu [et al.] // *Cell.* 2020. – Vol. 181, N 4. – P. e9.

142. Sunde, M. Molecular Characteristics and Biological Functions of Surface-Active and surfactant Proteins / M. Sunde, C. L. L. Pham, A. H. Kwan // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. – Vol. 86. – P. 585–608.

143. Sure, R. Halogen bonded supramolecular capsules: A challenging test case for quantum chemical methods / R. Sure, S. Grimme // *Chem. Commun.* 2016. – Vol. 52. – P. 9893–9896.

144. Surface-area cycling of different surfactant preparations: SP-A and SP-B are essential for large-aggregate integrity / R. A. Veldhuizen, S. A. Hearn, J. F. Lewis, F. Possmayer // *Biochem. J.* 1994. – Vol. 300, N 2. – P. 519-524.

145. Surfactant protein SP-B strongly modifies surface collapse of phospholipid vesicles: insights from a quartz crystal microbalance with dissipation / E. J. Cabré, J. Malmström, D. Sutherland [et al.] // *Biophys. J.* – 2009. – Vol. 97. – P. 768–776.

146. Surfactant proteins A and D: role in the pathogenesis of community-acquired pneumonia and possible predictive perspectives / O. S. Kharlamova, K. Yu. Nikolaev, Yu. I. Ragino, M. I. Voevoda // *Therapeutic Archive.* 2020. – Vol. 93, N 3. – P. 109–115.

147. The 21-residue surfactant peptide LysLeu4)4Lys(KL4) is a transmembrane alpha-helix with a mixed nonpolar/polar surface / M. Gustafsson, G. Vandenbussche, T. Curstedt [et al.] // *FEBS Lett.* 1996. – Vol. 384. – P. 185–188.

148. The diverse biological properties of the chemically inert noble gases / D. A. Winkler, A. Thornton, G. Farjot, I. Katz // *Pharmacol Ther.* 2016. – Vol. 160. P. 44–64.

149. The helical structure of surfactant peptide KL4 hen bound to POPC: POPG lipid vesicles / F. D. Mills, V. C. Antharam, O. K. Ganesh [et al.] // *Biochemistry.* 2008. – Vol. 47. – P. 8292–8300.

150. The ratio of pulse oximetry saturation and spontaneous respiratory rate in assessment of COVID-19-associated acute respiratory failure / O. V. Voennov, P. S. Zubeev, K. V. Mokrov [et al.] // *Russian Journal of Anesthesiology and Reanimatology.* – 2023. Vol. 2. – P. 51 – 57 (In Russ.)

151. The Role of Pulmonary Surfactants in the Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome in COVID-19 / Sh. Wang, Zh. Li, Xi. Wang [et al.] // *Frontiers in Pharmacology.* 2021. – Vol. 12. – P. 1-9.

152. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / M. Z. Tay, C. M. Poh, L. Rénia [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* – 2020. – Vol. 20. – P. 363–74.

153. Time-dependent changes in pulmonary surfactant function and composition in acute respiratory distress syndrome due to pneumonia or aspiration / R. Schmidt, P. Markart, C. Ruppert [et al.] // *Respiratory Research.* 2007. – Vol. 8. – P. 55–60.

154. Toward Molecular Mechanism of Xenon Anesthesia: A Link to Studies of Xenon Complexes with small Aromatic Molecules / N. N. Andrijchenko, A. Y. Ermilov, L. Khriachtchev [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* 2014. – Vol. 119. P. 2517–2521.

155. Turin, L. Electron spin changes during general anesthesia in *Drosophila* / L. Turin, E. M. C. Skoulakis, A. P. Horsfield // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014. – Vol. 111. P. 3524–3533.

156. Turin, L. Electron Spin Resonance (EPR) in *Drosophila* and General Anesthesia. In *Methods in Enzymology* / L. Turin, E. M. Skoulakis // Elsevier BV: Amsterdam, The Netherlands. 2018. – Vol. 603. P. 115–128.

157. Understanding Covid-19: Digit ratios and duration of oxygen therapy in hospitalized Covid-19 patients / A. Kasielska-Trojan, M. Jabłkowski, J. Białkowska-Warzecha [et al.] // *Early Human Development*. – 2024. Vol. 189. – P. 105940.

158. Use of exogenous pulmonary surfactant in acute respiratory distress syndrome (ARDS): Role in SARS-CoV-2-related lung injury / F. Cattel, S. Giordano, C. Bertiond [et al.] // *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2021. – Vol. 288. – P. e103645, ISSN 1569-9048.

159. Virus-associated lung disease / E. A. Borodulina, Y. E. Shirobokov, E. P. Gladunova, D. A. Kudlay // *Clinical Pharmacology and Therapy*. 2020. – Vol. 29, N 3. – P. 61–66. (In Russ.)

160. Wadt, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations — potentials for main group elements Na to Bi / W. R. Wadt, P. J. Hay // *J. Chem. Phys.* 1985. – Vol. 82, N 1. P. 284-298.

161. Weiskirchen, R. Severity of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Does Surfactant Matter? / R. Weiskirchen // *Front. Microbiol.* 2020. – Vol. 11. – P. e1905.

162. Xenon in the treatment of panic disorder: an open label study / A. Dobrovolsky, T. E. Ichim, D. Ma [et al.] // *J. Transl. Med.* 2017 – Vol. 15. – P. 137.

163. Xenon produces rapid antidepressant- and anxiolytic-like effects in lipopolysaccharide-induced depression mice model / J. Shao, L. Meng, Z. Yang [et al.] // *Neuroreport*. 2020. – Vol. 31. – P. 387-393.

164. Xenon-induced Effects in Relieving Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome / E. P. Fedorova, M. V. Filonova, A. A. Churin [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023. – Vol. 174, N 5. P. 605-609.

165. Xenon-Induced Recovery of Functional Activity of Pulmonary Surfactant (In Silico Study) / D. N. Evtushenko, A. V. Fateev, S. A. Naumov [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023. – Vol. 3. P. 176-183.