

В. Ю. Мишланов, В. А. Черешнев, А. Г. Чучалин

**ЦЕРИЙ И ДРУГИЕ МЕТАЛЛЫ  
ПЕРЕМЕННОЙ ВАЛЕНТНОСТИ  
В МЕДИЦИНЕ**

Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера

**В. Ю. Мишланов, В. А. Черешнев, А. Г. Чучалин**

# **ЦЕРИЙ И ДРУГИЕ МЕТАЛЛЫ ПЕРЕМЕННОЙ ВАЛЕНТНОСТИ В МЕДИЦИНЕ**

Пермь-Москва, 2023

УДК 615.326: 615.327-615.838.97  
ББК 54.12

**Рецензенты:**

Бучаченко А.Л., академик РАН, профессор, д.х.н., руководитель отдела динамики химических и биологических процессов Института химической физики РАН, научный руководитель Теоретического отдела Института проблем химической физики РАН, заведующий кафедрой химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Хлынова О.В., член-корреспондент РАН, профессор, д.м.н., заведующая кафедрой госпитальной терапии и кардиологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. Е.А. Вагнера Минздрава России.

Милаева Е.Р., профессор, д.х.н., заведующая кафедрой медицинской химии и тонкого химического синтеза химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

**М 57** Церий и другие металлы переменной валентности в медицине / В.Ю. Мишланов, В.А. Черешнев, А.Г. Чучалин.- Пермь, изд-во ПГМУ, 2023.- 144 с.

Монография посвящена изучению механизмов биологической активности, оценке клинической эффективности и безопасности новых ионных неорганических соединений на основе церия и других металлов переменной валентности. Наряду с результатами доклинических и клинических испытаний нового соединения неорганических солей природного происхождения, изложены общие подходы к применению ионов металлов переменной валентности в медицине и смежных биологических науках, обсуждаются доказанные факты и гипотезы механизмов эффективности ионов церия. Монография предназначена для студентов медицинских и фармацевтических вузов, преподавателей, врачей и научных работников.

Рекомендовано Ученым советом ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России. Протокол № 8 от 29.08.2023.

Монография издается за счет средств гранта РФФИ 20-415-596008 р\_НОЦ\_Пермский край.

## Оглавление

Список сокращений .....	4
Введение. Соли металлов переменной валентности в организме человека.....	5
Железо, Марганец, Церий. Соли двухвалентных металлов.....	8
Участие ионов металлов в окислительно-восстановительных реакциях.....	15
Участие ионов металлов в окислительном фосфорилировании, образова- нии и накоплении АТФ.....	23
Металлы переменной валентности и колебательные окислительно-вос- становительные реакции .....	26
Проблема митохондриальной дисфункции в клинической медицине .....	30
Лекарственные препараты ионов металлов в клинической практике .....	36
Комплексные препараты металлов переменной валентности .....	39
Ренериум (соль Вильгортская).....	42
Ренериум. Доклинические исследования .....	45
Оценка острой токсичности.....	45
Сравнительное исследование эффективности препарата Ренериум в эксперименте с участием лабораторных животных .....	53
Оценка эффективности ингаляционного препарата на модели острого бронхита у крыс, вызванного ингаляцией 1% раствора формалина.....	53
Оценка эффективности препарата Ренериум на модели плоскостной кожной раны у крыс.....	62
Клиническая эффективность и безопасность препарата Ренериум при лечении респираторных заболеваний .....	77
Эффективность и безопасность отдельных компонентов препарата Ренериум.....	90
Применение минеральных средств лечения поражений кожи и слизистых оболочек .....	95
Результаты клинической апробации препарата Ренериум для лечения повреждений кожных покровов.....	98
Заключение. Перспективы научных исследований .....	104
Список литературы .....	107
Благодарности .....	118

## Список сокращений

АДФ	аденозиндифосфат
АТФ	аденозинтрифосфат
БА	бронхиальная астма
ГТФ	гуанозинтрифосфат
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
КТ	компьютерная томография
ЛД	летальная доза
ПГМУ	Пермский государственный медицинский университет
ПДК	предельно допустимые концентрации
РНК	рибосинуклеиновая кислота
СОД	супероксид дисмутаза
ТД	терапевтическая доза
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
ЦНИЛ	центральная научно-исследовательская лаборатория
ЭТЦ	электрон транспортная цепь
ASEPSIS	балльная шкала оценки динамики раневого процесса
BAX	белок, вызывающий апоптоз, семейства bcl-2, мембранный маркер апоптоза
CoQ10	коэнзим Q10
DMT1	транспортер ионов двухвалентных металлов 1
FAD	флавинаденин динуклеотид
FADH <sub>2</sub>	восстановленная форма флавинаденин динуклеотида
FMN	флавин моноклеотид
FMNH <sub>2</sub> •	восстановленная форма флавин моноклеотида
FGF	фактор роста фибробластов
FGFR	рецептор к фактору роста фибробластов
IREG1	ген и внутриклеточный белок, регулирующий содержание железа 1
NAD	никотинамидаденин динуклеотид
NADH	восстановленная форма никотинамидаденин динуклеотида
NADF	никотинамидаденин динуклеотид фосфат
NADFH	восстановленная форма никотинамидаденин динуклеотид фосфата
NF-κβ	нуклеарный фактор каппа β
p53	белок, мембранный маркер апоптоза
SpO <sub>2</sub>	сатурация кислорода в тканях
ZIP8	цинк содержащий трансмембранный транспортирующий железо (Fe <sup>2+</sup> ) белок 8

## **Введение.**

### **Соли металлов переменной валентности в организме человека**

До сих пор знания о роли металлов с переменной валентностью в организме человека остаются фрагментарными, не были сгруппированы и проанализированы. Основу этой области знаний составляют представления об окислении и восстановлении химических элементов. В окислительно-восстановительных реакциях участвуют ионы, способные к изменению степени окисления. Окислительно-восстановительные процессы, в отличие от химических реакций с участием целых атомов какого-либо вещества, сопровождаются обменом электронами и, либо могут заключаться в их потере – процессы окисления, либо в акцепции – процессы восстановления [50]. Для наглядности окислительно-восстановительную реакцию лучше представить в виду двух полуреакций, например, окислительную полуреакцию двухвалентного иона железа можно записать так:



Восстановительная полуреакция запишется следующим образом:



Окислительно-восстановительные реакции отличаются от реакций элементов, проявляющих основные или кислотные свойства. Основными свойствами обладают металлы I и II групп периодической таблицы химических элементов Д.И. Менделеева, кислотными – элементы VII и VIII групп. Обособлено от этих категорий стоят нейтральные газы – гелий и другие. Химические элементы с III по VI группу могут выступать в качестве катионов или анионов в зависимости от вещества, образованного с их участием, это слабые основания с участием металлов или слабые окислители. В результате взаимодействия двух химических элементов с противоположными свойствами образуется новое химическое вещество.

К металлам с переменной валентностью, играющим особую роль в организме человека, относят Fe, Cu, Cr, Mn, Co, V, Ti и др. [42,140]. Окислительно-восстановительные реакции реализуются в сопряженной паре, например,  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ ,  $Cu^+/Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}/Mn^{3+}$  и другие, и, как правило, характеризуются равновесием энергии, затраченной на восстановление и переданной в результате окисления. В последние годы наши знания пополняются информацией об участии химических элементов группы лантаноидов и актиноидов в биологических процессах, где они выступают как металлы с переменной валентностью [101,111].

В организме человека окислительно-восстановительные реакции определяют процессы накопления энергии и активность метаболических процессов. Известно, что процесс окислительного фосфорилирования используется в синтезе и накопления АТФ в митохондриях [5,79]. Вместе с метаболическими и энергетическими процессами с участием окислительно-восстановительных реакций можно отметить их значение в сохранении структуры и функции клеточных мембран, где интерес вызывают реакции перекисного окисления липидов, регулируемые активностью супероксид-дисмутазы и глутатион пероксидазы [66]. Окислительно-восстановительные процессы определяют функцию мембранных каналов, зависимых от содержания АТФ. Например, фермент калий-натриевая АТФ-аза, используя окислительно-восстановительный потенциал, отвечает за поддержание градиента концентраций натрия во внеклеточной среде и калия внутри клетки [5]. Кроме этого, окислительные реакции активно участвуют в бактерицидных механизмах, опосредованных взаимодействием функции пероксидаз (миелопероксидаза) и каталазной активностью [65].

Большинство ферментов окислительно-восстановительных реакций в организме человека содержат ионы металлов в качестве структурной и/или функциональной единицы. Металлы переменной валентности при этом могут служить в качестве либо акцепторов, либо доноров электронов. Эти свойства зависят от микроокружения, в частности кислой или щелочной реакции среды, присутствия других ионов металлов или их солей, соотношения ионов металлов, способных участвовать в одних и тех же реакциях. Известно, что функция некоторых ферментов может обеспечиваться наличием различных металлов. Так, супероксид-дисмутаза может содержать ионы марганца  $Mn^{2+}$  вместо ионов железа  $Fe^{2+}$ , известно замещение цинком  $Zn^{2+}$  ионов железа  $Fe^{2+}$  в железо-сульфидных кластерах, или замещение ионов магния  $Mg^{2+}$  ионами железа  $Fe^{2+}$  [143]. Логично, возникает вопрос, изменяется ли функция ферментов, при замещении связанных с ними ионов металлов, и, при каких условиях возможны такие замены, каковы их биологические последствия? Поиск ответов на эти вопросы является задачей исследований ученых в последние годы.

Окислительно-восстановительные реакции регулируют активность генов в ядре клетки и митохондриальной ДНК. В экспериментах было показано, что синтетические наночастицы, содержащие ионы церия, кремния, гидроксильные и аминокислотные группы влияют на экспрессию белков, регулирующих клеточный апоптоз: p53, BAX, Caspase 9, увеличивают количество клеток, вступающих в апоптоз в популяциях опухолевых клеток, практически не влияя на здоровые, что позволяет проводить эксперименты с участием лабораторных животных, которым новый препарат вводят внутривенно или непосредственно в опухолевую ткань. Отмечено, что эффект развивается при достаточно высоких концентрациях наночастиц, более  $\geq 500$  мкг/мл, и более выражен в кислой среде при pH 4,0, а также в присутствии перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) [132].

Предметом обсуждения данной монографии является роль некоторых металлов переменной валентности и их комбинаций в регуляции функций слизистых оболочек, кожи и внутренних органов человека, а также возможность использования солей церия и других металлов переменной валентности в лечебных целях при воспалительных заболеваниях.

## **Железо, Марганец, Церий. Соли двухвалентных металлов**

### **Железо**

Железо является металлом переменной валентности и имеет максимальное содержание в организме человека по отношению к другим элементам с переменной валентностью – 4,0 - 4,5 гр., что определяет его лидирующую роль в окислительно-восстановительных реакциях. В организме человека железо содержится в структуре гемоглобина, миоглобина, нейроглобина, цитохромов a1, a3, b1, b5, c, p450, ферментов: миелопероксидазы, каталазы, тиреопероксидазы, лактопероксидазы, NADH-дегидрогеназы, сукцинат дегидрогеназы, супероксид дисмутазы, циклооксигеназы, липоксигеназы, а также в связи с цитратом, АТФ, цистеином, в железосодержащих кластерах. В различных соединениях железо представлено либо в двухвалентной форме  $Fe^{2+}$  либо в трехвалентной форме  $Fe^{3+}$ . Железо принимает участие в системах транспорта и передачи кислорода клеткам и тканям, обеспечивая тканевое дыхание, в метаболических превращениях белков, липидов и углеводов, эндогенных метаболитов и ксенобиотиков, входит в состав более сотни белков и ферментов, регулирует процессы митоза, неспецифические реакции системы иммунитета, синтез ДНК (в составе фермента рибонуклеотидредуктазы), некоторых структурных белков, включая коллаген [42]. Относительно новыми являются данные о роли гемоглобина эритроцитов в транспортировке оксида азота (NO), необходимого для восстановления ионов железа ( $Fe^{3+}$ ) до  $Fe^{2+}$ , осуществляющего, в свою очередь, перенос кислорода, а также в реализации функции динитрозольных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами, принимающих участие в регуляции важнейших функций организма человека и поддержании равновесия между окислительными и восстановительными реакциями [10,84].

В организм взрослого человека железо поступает через желудочно-кишечный тракт. Потери железа, около 1 мг в день, происходят за счет десквамации эпителиальных клеток кишечника, кожи, микрокровоотечений и потерь с желчью. У женщин детородного возраста дополнительные потери отмечаются в период менструации и во время родов. Гемовое железо в двухвалентной форме  $\text{Fe}^{2+}$  всасывается энтероцитами тонкого кишечника, превращается в трехвалентное  $\text{Fe}^{3+}$  внутри энтероцитов путем окисления при участии IREG1, затем связывается с трансферрином и транспортируется к тканям. Двухвалентное  $\text{Fe}^{2+}$  железо (не гемовое, т.е. не связанное с порфириновым кольцом) связывается в желудке с белковым носителем и всасывается в двенадцатиперстной или тощей кишке посредством трансмембранного транспортера двухвалентных металлов -1 (DMT1), конкурируя с другими двухвалентными металлами.

Регуляция поступления железа в клетку осуществляется путем стимуляции экспрессии рецептора к трансферину. В клетке железо связывается с ферритином и транспортируется в митохондрии для образования гемма и железосодержащих кластеров, участвующих в процессах синтеза АТФ и накопления энергии.

Регуляция поступления железа в организм человека осуществляется гормоном – гепсидином, который влияет на экспрессию и функцию трансмембранного переносчика двухвалентных металлов -1 (DMT1). Можно отметить, что транспортные системы и депонированные формы железа обеспечиваются его 3-х валентной формой  $\text{Fe}^{3+}$ , что определяет преобладание реакций окислителя с участием ионов железа, увеличивает образование перекисей и способно вызвать нарушение баланса окислительно-восстановительных реакций. Перегрузка железом характеризуется окислительными повреждениями белков и клеточных структур, ведущими к гибели клеток [75].

Центральным звеном синтеза АТФ является работа электрон транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий. Реакция Фентона, один из этапов работы ЭТЦ, состоит в том, что ионы  $\text{Fe}^{2+}$  окисляются пероксидом водорода до ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , а затем снова под действием пероксида превращаются в  $\text{Fe}^{2+}$ :



Итогом реакции является накопление гидропероксида – сильнейшего окислителя органических соединений. Вместе с тем, реакция Фентона предупреждает накопление перекиси водорода, избыток которой может привести к изменению активности ферментов клеточного дыхания. Известным фактом является взаимосвязь накопления внутриклеточного железа с частотой сердечно-сосудистых событий, инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа [42].

## Марганец

Марганец – d-элемент седьмой группы побочной подгруппы, может иметь переменную степень окисления от -3 до +7. В организме человека наиболее характерными для него являются степени окисления +2, +3. Марганец необходим для формирования костной ткани, синтеза белков, молекул АТФ и регуляции клеточного метаболизма [74]. Известными процессами, ассоциированными с участием ионов марганца, являются оксидативный стресс, реакция Фентона (синтез АТФ), взаимодействие с трансферрином в роли конкурентного антагониста с ионами железа и цинка, а также участие в развитии нервной ткани [148].

Марганец является необходимым элементом, принимающим участие в регуляции метаболизма глюкозы и липидов, а также в реакциях удаления продуктов оксидативного стресса в митохондриях, что предупреждает торможение синтеза АТФ.

В организм человека марганец, в основном, поступает через желудочно-кишечный тракт, затем транспортируется преимущественно внутрь митохондрий клеток печени, поджелудочной железы и гипофиза. Марганец встраивается в структуру многих ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, изомеразы и других, участвует в образовании витаминов групп В и С, регулирует эндокринные и иммунные реакции организма человека.

Участие ионов марганца в регуляции оксидативного стресса обусловлено функцией металло-содержащих ферментов: аргиназы, глутамин синтетазы, фосфоенолпируват декарбоксилазы и марганец содержащей супероксид дисмутазы [102].

Участие ионов марганца в регенерации тканей и репродукции обусловлено действием в качестве кофактора ферментативных реакций синтеза холестерина и стероидных половых гормонов. У женщин ионы марганца влияют на функцию гипоталамуса и развитие молочных желез [147].

Острое отравление марганцем приводит к развитию марганизма, а хроническая интоксикация сопровождается экстрапирамидными расстройствами и развитием болезни Паркинсона. Известно, что неблагоприятным является как избыток, так и дефицит ионов марганца в организме, что ведет к нарушению роста, формирования костной ткани, снижает фертильность, вызывает нарушение толерантности к углеводам и метаболизма липидов. Также избыток марганца вызывает нарушения функции митохондрий [126]. В мозге крыс, подвергшихся воздействию марганца, был отмечен сдвиг соотношения  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  к  $Fe^{2+}$ . Двухвалентное железо в последующем участвует в реакции Фентона, а также в перекисном окислении липидов [104,144].

## Церий

Церий проявляет выраженные свойства металла с переменной валентностью, что и определяет его активное участие в регуляции окислительно-восстановительных реакций. Атомная масса церия составляет 140,1. Атом имеет 6 слоев электронной оболочки. Полная электронная конфигурация атома церия выглядит следующим образом:  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^2 4d^{10} 5p^6 6s^2 4f^1 5d^1$ . При этом на внешней орбите присутствуют только 2 электрона, что определяет их легкую эмиссию и сопровождается окислением церия с проявлением восстановительных свойств по отношению к другим участникам химических реакций. На d-подуровне 5-го слоя электронной оболочки присутствует только 1 электрон, т.е. до заполнения не хватает 9 электронов, что определяет акцепторные свойства элемента, когда церий выступает в роли окислителя. В различных химических реакциях церий может иметь различные валентности, но в организме человека чаще имеет валентности 3+ или 4+. Известно, что эмиссия электрона и переход церия из валентности 3+ в 4+ сопровождается выделением энергии. Реальные окислительно-восстановительные потенциалы систем, содержащих соединения церия (IV), колеблются в пределах от +1,3 до +1,7 В, в зависимости от среды и концентрации лиганда [49].

В медицине наибольший интерес вызывают свойства солей и оксидов церия, как средства, влияющего на редокс-потенциал клетки, стимулирующего регенераторную активность, восстанавливающего эпителиальные клетки дыхательных путей после воспалительного заболевания [31,32].

Роль церия в организме человека до настоящего времени окончательно не изучена, но экспериментальные исследования показывают, что церий может выступать в роли кофермента, а также оказывать влияние на активность пролиферации через структуру нуклеиновых кислот (ДНК и РНК). Было продемонстрировано, что оксид и соли церия обладают противовирусной активностью. Одним из механизмов противовирусного эффекта церия считают регуляцию продукции альфа-интерферона клетками хозяина.

В опубликованных результатах исследований на модели фибробластов кожи продемонстрированы антиокислительные свойства наночастиц оксида церия, а также способность подавлять рост опухолевых клеток [150]. В другом исследовании церий в комбинации с сульфодиазином серебра продемонстрировал выраженный бактерицидный эффект [124]. Интерес вызывает попытка использовать солевые составы в качестве основы для применения других, органических, в т.ч. синтетических субстанций. Так, в исследованиях был продемонстрирован выраженный антипролиферативный эффект кумаринов в комплексе с церием, лантаном и неодимом в отношении клеток лимфомы, что доказывает влияние редкоземельных металлов на редокс-систему опухолевых клеток [122].

Возможно, соединения церия проявляют противоположные свойства в зависимости от дозы (концентрации) биологически активного соединения. В исследовании Ramírez-Olvera S.M. и др. (2018) продемонстрирован эффект микромолярного хлорида церия как эссенциального нутриента для роста растений в комбинации с другими химическими элементами [139]. Соединения церия являются также необходимыми для роста метанотропных микроорганизмов [136].

В исследовании Ngoc L.T. et al. (2019) продемонстрирован противоопухолевый эффект сложного соединения церия в дозировке более 500 мкг/мл в отношении широкого спектра линий опухолевых клеток человека [132].

В 2009 году Агентство по охране окружающей среды США выпустило документ о дозозависимом токсическом действии соединений церия на организм человека [149]. В качестве основного эффекта, проявление которого отмечено в небольших дозах, указан пролиферативный ответ эпителия дыхательных путей. Необходимо заметить, что накопление паров церия в воздухе в производственных условиях ранее было отмечено как агрессивное воздействие, вызывающее поражение паренхимы легочной ткани [95].

Возможно, противовоспалительное действие ионов церия и других лантаноидов взаимосвязано с их прокоагуляционной активностью [119].

В настоящее время накоплено не много информации о клиническом применении солей церия в лечении различных заболеваний. Имеются ограниченные сведения о положительном ранозаживляющем эффекте комбинированного препарата фламмацериум, содержащего 1% раствор сульфодиазина серебра и нитрат церия [124].

### **Соли двухвалентных металлов**

Двухвалентные металлы принимают разнообразное участие в формировании структурных и функциональных систем нашего организма. Наиболее ценным представляется роль кальция, участвующего в образовании костной ткани, в формировании биологического электричества, регулирующего сократительную активность мышечных и секреторных клеток организма человека [6]. В медицине активно используются как соли и органические соединения кальция, так и блокаторы медленных кальциевых каналов для лечения больных артериальной гипертензией [2]. Кальций активно участвует в воспалительных реакциях, и накопление кальция в биологических тканях, как правило, наблюдается в результате хронического воспалительного процесса. Кальций называют IV фактором свертывания крови, и ранее хлорид кальция активно применяли для остановки кровотечения [6,34,44].

Интересной особенностью биологических функций металлов с двухвалентными свойствами

оказалось наличие общего трансмембранного транспортера, имеющего обозначение DMT1 (divalent metal transporter 1) [148]. Максимальное биологическое значение данного транспортера было продемонстрировано на эпителиоцитах в 12-перстной кишке, где его роль заключается в захвате 2-х валентных ионов железа, их транспортировке в клеточные эндосомы. Транспортер способен переносить различные двухвалентные ионы:  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{V}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , и  $\text{Cu}^{2+}$ , но не ионы  $\text{Zn}^{2+}$ . При этом не исключается конкуренция ионов за связывание с транспортным белком [93]. Известно 4 изоформы транспортного белка, которые имеют относительную специфичность по отношению к различным тканям. Описаны и другие общие транспортные системы для двухвалентных металлов, например, ионы  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  способны транспортироваться кальциевыми каналами [115,132]. Для ионов цинка описаны два семейства транспортных белков, оказывающих противоположное действие в отношении накопления цинка в клеточном цитозоле [92].

Цинк традиционно имеет только двухвалентную ионную форму, т.к. на внешнем уровне электронной оболочки представлены два электрона, которые атом цинка эмитирует в ходе химических реакций. Атомная масса составляет 65,38. Считается, что в биологических системах ионы цинка либо не участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, либо являются антиоксидантами [116,129]. Тем не менее, в ходе эксперимента методом электролиза в присутствии  $\text{KCl/NaCl}$  и  $\text{Ag/AgCl}$  продемонстрирована возможность восстановления  $\text{Zn}^{2+}$  до атомарного состояния после заполнения внешнего уровня электронной оболочки [155]. В биологических системах, как дефицит цинка, так и перегрузка клеток этим химическим элементом способны вызвать оксидативный стресс [129].

Взаимодействие ионов цинка с органическими кислотами может сопровождаться образованием нерастворимых оксалатов. Ионы цинка также могут вступать во взаимодействие с ионами железа с образованием  $\text{Fe}^{3+}$ , а также ионами марганца и ионами свинца [49].

Цинк входит в состав большого количества ферментов, например, карбангидраза, щелочная фосфатаза, РНК- и ДНК-полимеразы, тимидинкиназные карбоксипептидазы, алкогольдегидрогеназа. Он играет ключевую роль в синтезе белка и нуклеиновых кислот, что объясняет нарушения роста и заживления ран, наблюдающиеся при дефиците этого элемента.

Недавно была продемонстрирована роль цинка в обеспечении гемостаза, играющего важную роль и в реализации воспаления. Ионы цинка накапливаются в альфа-гранулах тромбоцитов и определяются в зоне тромбоза [88].

Хорошо изучены антиоксидантные и противовоспалительные эффекты цинка. Продемонстрировано, что добавление цинка увеличивает образование эндогенного белка A20, а также цинк-транс-

криптирующего фактора, которые подавляют активацию NF- $\kappa$ B и снижают генерацию провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками, включая ИЛ-1 $\beta$  [137].

Ценные лечебные свойства солей и оксида цинка известны достаточно хорошо [48]. Оксид цинка давно и успешно применяется как наружное средство для лечения воспалительных процессов кожи и слизистых оболочек. Известно и применение сульфата цинка в форме глазных капель и мази [83]. Активно обсуждаются антиоксидантные свойства цинка [137].

Интригующие данные о роли двухвалентных металлов были представлены китайскими учеными, проводившими сравнительное исследование противоопухолевой активности известного алкалоида Liriodenine, выделенного из *Zanthoxylum nitidum* – деревянистого растения семейства Рутовые. В исследовании было показано, что комплексы двухвалентных металлов, состоящие из: [MnCl<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>] (1), [FeCl<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>] (2), [Co(L)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>·Co(L)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>4</sub> (3), и [Zn<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(m2-Cl)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (4), более активно связываются с ДНК 10 видов опухолевых клеток человека, чем не связанный Liriodenine. Данный эффект объясняется участием интеркаляционного (обратимое включение молекулы или группы между другими молекулами или группами [33]), электростатического и ковалентного связывания (цинк-содержащий комплекс) с молекулой ДНК, а также ингибирующим воздействием на топоизомеразу I, необходимую для репликации и транскрипции ДНК в опухолевых клетках [127].

## **Участие ионов металлов в окислительно-восстановительных реакциях**

Окислительно-восстановительные реакции играют важнейшую роль в обеспечении жизненных функций организма человека, как и других биологических видов. Хорошо изученными физиологическими процессами с участием окислительно-восстановительных реакций являются: регуляция функциональной активности мембранных рецепторов клеток, состав и активность мембранных липидов, окислительное фосфорилирование субстратов в механизмах синтеза АТФ и формирование запаса внутриклеточной энергии в митохондриях, регуляция процессов транскрипции генетической информации и синтеза белков, а также процессов митотической активности. Такой широкий диапазон влияния окислительно-восстановительных реакций обусловлен механизмами эмиссии и акцепции электронов, передачи электронов от одних химических элементов другим, что изменяет функциональную активность молекул, заставляет их вступать во взаимодействие. Окислительно-восстановительные реакции формируют цепи передачи электронов и энергии, в которых участвуют окислители (вещества, испытывающие восстановление электронных уровней атомов) и восстановители (вещества, отдающие свои электроны другим химическим субстратам). Процессы окисления и восстановления должны быть сбалансированы, и для сохранения жизни необходимо как непрерывное поступление веществ – доноров и акцепторов электронов, так и выделение веществ, не способных к дальнейшему участию в окислительно-восстановительных реакциях.

Многие металлы принимают активное участие в окислительно-восстановительных реакциях, будучи либо окислителями, либо восстановителями. Если электронная оболочка атома металла содержит на внешних орбитах слабо удерживаемые электроны, атом легко отдает их в химической реакции, является донором электронов или восстановителем. Такие свойства специфичны для

металлов 1 и 2-й групп таблицы химических элементов. Более тяжелые по атомной массе атомы металлов с незаполненными внешними электронными орбитами легче проявляют окислительные свойства, захватывая электроны других химических элементов. С этих классических позиций химии можно говорить о восстановительных свойствах большинства одновалентных металлов первой группы и двухвалентных металлов второй группы, включая Mg и Ca, а также некоторых других групп периодической таблицы химических элементов: Mn, Fe, Cu, Zn.

Металлы переменной валентности могут участвовать в окислительно-восстановительных реакциях, будучи как восстановителями, так и окислителями. Так из перечисленных выше элементов к металлам переменной валентности относятся Fe, Mn и Cu, но Zn иногда может иметь нулевую валентность, т.е., собственно, превращаться в металл в структуре сложных биомолекул (цинк определяет структуру многих биологических молекул), приобретая электроны для внешней электронной оболочки атома в процессе восстановительной реакции. Известно, что Zn, Mn и Cu являются структурными элементами супероксид дисмутаза, выполняющих роль антиоксидантов [94]. Другим механизмом участия указанных металлов в реализации антиоксидантной, противомикробной и антипаразитарной активности является образование комплексов с кумаринами [90].

Процессы обеспечения жизни требуют баланса реакций окисления и восстановления, что указывает на необходимость равновесия между содержанием ионов металлов с окислительными и восстановительными свойствами. Такой баланс поддерживается циклическими ферментативными процессами, примером которых служит цикл Кребса (трикарбоновых кислот), обеспечивающий синтез продуктов для процессов окислительного фосфорилирования: 2 молекулы  $\text{CO}_2$ , 3 молекулы NADH, 1 молекула  $\text{FADH}_2$  и 1 молекула ГТФ (или АТФ) [39]. Молекулы NADH и  $\text{FADH}_2$  участвуют в окислительном фосфорилировании в митохондриях в качестве доноров электронов, в результате чего ионы водорода переносятся в межмембранное пространство и, взаимодействуя с АТФ-синтазой, стимулируют фосфорилирование АДФ с образованием АТФ. Продуктами окислительных реакций под влиянием высвобождения электронов молекулами NADH и  $\text{FADH}_2$  становится супероксид ( $\text{O}_2^-$ ) и другие продукты пероксидации. При этом избыток супероксида ( $\text{O}_2^-$ ) тормозит синтез АТФ и угрожает повреждению структур клетки.

**Основные этапы образования перекисей, включая гидроксильный анион, описываются следующими уравнениями:**

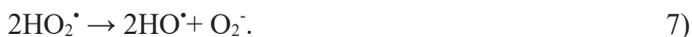
- анион  $\text{O}_2^-$  (супероксид кислорода), образуется из молекулярного кислорода путем присоединения электрона:



- радикал  $\text{HO}_2^\cdot$ , возникает в результате присоединения протона (из воды) к аниону  $\text{O}_2^-$ :

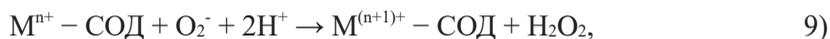
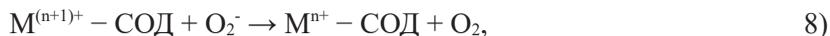


- радикал (гидроксильный анион)  $\text{HO}^\cdot$ , образуется из аниона  $\text{HO}_2^\cdot$ :



Элементами переноса электронов в эукариотических клетках являются флавиновые кофакторы, железо-серные кластеры, цитохромы, содержащие ионы железа, выступающие в роли окислителя ( $\text{Fe}^{3+}$ ) или восстановителя ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Активную роль в переносе протонов через внутреннюю мембрану митохондрий также играют ионы меди ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Ионы этих металлов влияют на интенсивность образования энергии, а также на образование и утилизацию продуктов пероксидации, что становится возможным благодаря присутствию ионов железа, меди, марганца и никеля – металлов переменной валентности.

Утилизация пероксида кислорода осуществляется при участии фермента супероксид дисмутазы в два этапа:



где М (переходный металл) = Cu (n=1); Mn (n=2); Fe (n=2); Ni (n=2).

Известны 3 типа супероксид дисмутазы, различающиеся, в зависимости от ассоциированного с ферментом металла, и внутриклеточного расположения. 1-й тип фермента присутствует в цитозоле и ассоциирован с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Супероксид дисмутаза 2-го типа, расположенная в митохондриях человека, ассоциирована с металлом переменной валентности – Mn. Фермент 3-го типа расположен в межклеточном пространстве и ассоциирован с участием  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Кроме супероксид дисмутазы, к антиокислительным ферментам относят каталазу и пероксидазы (глутатионпероксидаза), осуществляющие утилизацию перекиси водорода, образованной в результате активности супероксид дисмутазы [30]. Следовательно, антиокислительная активность в митохондриях реализуется при участии двух металлов переменной валентности – железа, участвующего в образовании железо-серных кластеров, а также марганца – обеспечивающего активность супероксид дисмутазы 2-го типа.

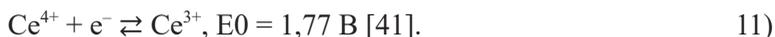
Участие других металлов переменной валентности в биологических окислительно-восстановительных реакциях изучено недостаточно. Известно, что церий и другие лантаноиды являются металлами с переменной валентностью, принимающими активное участие в окислительно-восстановительных реакциях. Ионы  $\text{Ce}^{3+}$ , имеющие восстановительные свойства способны нейтра-

лизовать продукты перекисного окисления. Кластеры  $Me_n$  (церий и др.) предупреждают образование радикала  $HO_2\cdot$  по реакции:

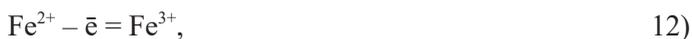


Анализ научной литературы показывает, что многие исследователи изучали биологическую эффективность не определенных солей или ионов церия, а систем, включающих оксид церия (IV), или ионы церия (III) с другими металлами переменных степеней окисления, например, Mn, Zn, Ag. Такие системы демонстрировали пролиферативные реакции в культуре фибробластов или эпителиальных клеток, противовоспалительную активность, обусловленную торможением транскрипции генов, отвечающих за синтез провоспалительных цитокинов, антиапоптотическую активность. Учитывая, что ионы  $Ce^{3+}$  проявляют восстановительные свойства, а ионы  $Ce^{4+}$  – окислительные, их ожидаемые биологические эффекты должны быть противоположными. Но сбалансированная система должна включать механизмы, обеспечивающие как трансформацию 3-валентного иона в 4-х валентный, так и обратный процесс.

Известно, что превращение  $Ce^{4+}$  в 3-хвалентное состояние сопровождается потреблением энергии, согласно уравнению:



Приблизительно такое же количество энергии необходимо для перехода ионов  $Mn^{5+}$  в 4-х валентное состояние (около 1,7 В при pH 4-5) [49]. Можно предположить, что система с участием двух металлов переменной валентности  $Ce^{3+}$  и  $Mn^{7+}$ , в определенном соотношении, вызывает колебательные окислительно-восстановительные реакции, и обеспечивает устойчивость в случае избыточного образования кислородных радикалов, при условии пополнения ионных форм металлов и выведения соединений, не способных к повторному вступлению в реакцию. В биологических системах окислительное повреждение тканей может быть купировано достаточным количеством сопряженных пар ионов металлов переменной валентности. Такие процессы могут происходить в области клеточных мембран или цитозоля, где активность супероксид дисмутазы определяется присутствием ионов  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ . При этом известно, что ионы  $Zn^{2+}$  катализируют восстановительные реакции, например, прямое превращение (окисление) ионов железа:



или окисление и осаждение оксалатов [49].

Мы предположили, что в условиях воспалительной реакции и патологии слизистой оболочки респираторного тракта возникают реакции перекисного окисления, где одним из основных окислителей является супероксидный радикал  $O_2\cdot^-$ . В реакции перекисного окисления прини-

мают участие и другие окислители, активность которых объясняется наличием неспаренного электрона на внешнем уровне электронной оболочки атома кислорода: гидроксильный радикал ( $\text{HO}^\bullet$ ); гидроксид-ион ( $\text{HO}^-$ ); триплетный кислород ( $\text{O}_2^{2*}$ ); пероксид-ион ( $\text{O}_2^{2-}$ ) и оксид азота ( $\text{NO}^\bullet$ ). При взаимодействии с водой супероксидный радикал способен образовать перекись водорода:



Гипотеза состояла в способности ионов Се (III) вступать в обменные реакции с окислителем с изменением валентности до Се (IV). Для подтверждения этой гипотезы, с целью определения характера взаимодействий микроэлементов переменной валентности в системе, нами были проведены простые химические реакции.

Исследовали окисление хлорида церия (III) и сульфата церия (III). В качестве окислителя использовали раствор  $\text{KMnO}_4$  (1 мг/100 мл дистиллированной воды). Исследования выполнены на базе ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера (кафедра пропедевтики внутренних болезней №1) и ООО «Ренериум». Реакцию проводили путем смешивания растворов при комнатной температуре.

Раствор хлорида церия (III) готовили путем растворения химически чистого  $\text{CeCl}_3$  семиводного, производство ООО «Химкрафт», в дистиллированной воде или в 0,9% растворе хлорида натрия, готовили концентрацию 1 мг/л.

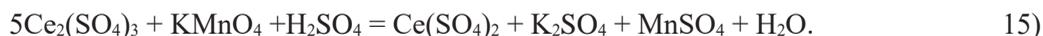
Раствор сульфата церия (III) готовили путем растворения химически чистого  $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$  восьмиводного, производство ООО "Химкрафт", в дистиллированной воде или в 0,9% растворе хлорида натрия, готовили концентрацию 1 мг/л.

Дополнительно использовали растворы 1Н NaOH и 1Н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  производства ООО «АО РЕАХИМ».

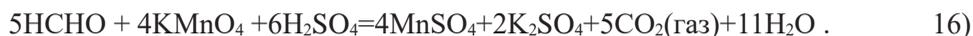
Раствор  $\text{KMnO}_4$  (100 мл) в качестве окислителя смешивали с исследуемыми растворами в стеклянном стакане. Установлено, что при смешивании растворов  $\text{KMnO}_4$  с  $\text{CeCl}_3$ , в присутствии 1Н NaOH, наблюдается химическая реакция, сопровождаемая изменением розового цвета раствора перманганата калия на бурый с выпадением осадка коричневого цвета. Реакция описывается уравнением:



При смешивании растворов  $\text{KMnO}_4$  с  $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$ , в присутствии 1Н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , прозрачный малиновый раствор перманганата калия заметно светлеет, сохраняя розовый оттенок без выпадения осадка. Реакция описывается уравнением:



Одновременно с этим в присутствии раствора формалина (НСНО) в качестве субстрата, протекает реакция окислителей с молекулами формалина в кислой среде:



Ионы  $\text{Ce}^{4+}$  также способны окислять молекулы формалина:



и в нейтральной среде эта реакция сопровождается подкислением раствора (НСl).

Описанные реакции делают возможным прямое окисление формалина или другого субстрата на поверхности клеточной мембраны. При этом следует учитывать, что для полного окисления продуктов интоксикации необходимо предположить механизм постоянного восстановления окислителя. Такой механизм возможен, например, при реализации колебательной реакции окисления  $\text{Ce}^{3+}$ .

Представленные результаты подтверждают возможность окисления соли церия (III) с образованием гидроксида церия (IV), образующего осадок (вместе с осадком  $\text{MnO}_2$ ). Во втором случае окисления соли церия (III) до сульфата церия (IV) сопровождалось изменением цвета раствора. В биологических объектах, на поверхности воспаленной слизистой оболочки бронхов и поврежденного эпителия с участием супероксид-аниона, а также других окислителей реакция приобретает вид, описываемый уравнением:



Изменение валентности ионов церия с (III) на (IV) подтверждает восстановительные (антиокислительные) свойства ионов церия (III), и указывает на возможность клинического применения минеральных комплексов, содержащих ионы церия (III) в лечении воспалительных заболеваний респираторного тракта с поражением эпителиальных клеток.

Обязательным условием окислительно-восстановительных реакций является равновесие процессов окисления и восстановления. Это условие становится возможным при наличии в системе различных атомов, образующих сопряженные пары, отличающихся по способности отдавать и принимать электроны, т.е. направлением спонтанных реакций. Так, например, известно, что кадмий и цинк – более сильные восстановители, чем водород  $\text{H}_2$ , а медь – менее сильный [51]. Потенциал системы (сопряженной пары)  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}$  равен +0,3 В, т.е. полуреакция восстановления  $\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}^0$  в паре со стандартным водородным электродом (СВЭ) протекает самопроизвольно, а потенциалы систем  $\text{Cd}^{2+}/\text{Cd}$  и  $\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}$  будут равны -0,4 и -0,8, соответственно, т.к. произвольно в паре с СВЭ протекают реакции окисления. При этом необходимо учитывать, что сопряженная пара  $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$  имеет потенциал от +1,61 до 1,77 [1,73], что означает спонтанное

восстановление церия до  $\text{Ce}^{3+}$  в сопряженной паре с  $\text{Ce}^{4+}$ . При этом равновесие в системе достигается, например, при наличии в системе ионов  $\text{Ce}^{4+}$  и  $\text{Zn}^0$ . Полуреакции описываются следующими уравнениями:



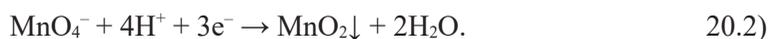
В случае присутствия в системе ионов  $\text{Ce}^{3+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ , например, в форме  $\text{ZnSO}_4$ , спонтанные реакции окисления и восстановления не происходят, но становятся возможными, если дополнительно появляется сильный окислитель, заставляющий ионы  $\text{Ce}^{3+}$  проявлять свойства восстановителя.

Окислительные свойства перманганата калия могут изменять поведения системы вступая во взаимодействие с ионами цинка с образованием перманганата цинка и последующим высвобождением цинка в результате реакции восстановления ионов марганца до  $\text{Mn}^{4+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ . Реакция описывается уравнениями [49]:

при  $\text{pH} < 4$  ( $E^0 = 1,51 \text{ В}$ ):



при  $\text{pH} = 4-5$  ( $E^0 = 1,695 \text{ В}$ ):



Окислительно-восстановительные реакции в биологических системах чаще протекают при участии ионов железа, цинка и меди. Например, восстановление иона  $\text{Fe}^{3+}$  до  $\text{Fe}^{2+}$  протекает в присутствии цинка с образованием ионов  $\text{Zn}^{2+}$ , согласно уравнению:



$$E^0 \text{ Zn}^{2+}/\text{Zn}^0 = -0,736 \text{ В};$$

$$E^0 \text{ Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+} = +0,771 \text{ В}.$$

Очевидно, что потенциал сопряженной пары  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  имеет меньшее значение, чем сопряженной пары  $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$  (1,77 В), что позволяет считать, что участие ионов церия оптимизирует окислительно-восстановительные реакции, повышая восстановительный потенциал при участии ионов  $\text{Ce}^{3+}$ .

Таким образом, окислительно-восстановительные реакции играют существенную роль в процессах образования энергии биологических систем, включая окислительное фосфорилирование. Основным фактором ограничения накопления энергии в клетке живого организма является чрезмерное накопление продуктов пероксидации, прежде всего, супероксидного радикала, образующегося путем присоединения электрона к молекулярному кислороду. Причиной накопления су-

пероксида кислорода становится недостаточное количество ионов металлов с восстановительными свойствами, в т.ч. изменение соотношения  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  в митохондриях. Включение в систему ионов других металлов переменной валентности, например,  $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$  ( $E^0 = 1,77 \text{ В}$ ) способно увеличить восстановительный потенциал системы за счет ионов  $\text{Ce}^{3+}$ . Необходимым условием колебательных окислительно-восстановительных реакций в системе ионов металлов переменной валентности, обеспечивающей стабильное управление перемещением электронов для синтеза АТФ, является участие сопряженных пар металлов, имеющих противоположные знаки электродного потенциала по отношению к стандартному водородному электроду.

## **Участие ионов металлов в окислительном фосфорилировании, образовании и накоплении АТФ**

Активное участие в окислительном фосфорилировании принимают ионы  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Субстратом окислительного фосфорилирования является аденозиндифосфат (АДФ), который превращается в молекулу АТФ, имеющей запас энергии, способной высвободиться при обратном дефосфорилировании, а также представлять фосфатную группу для процессов репликации ДНК. Ионы металлов участвуют на всех этапах накопления энергии электронов для окислительного фосфорилирования: образовании глюкозо-6-фосфата (ионы  $\text{Mg}^{2+}$ ), анаэробном гликолизе с накоплением молочной кислоты (ионы  $\text{Mg}^{2+}$ ), цикле трикарбоновых кислот, ведущий к образованию NADH и  $\text{FADH}_2$  (ионы  $\text{Zn}^{2+}$ ), электрон-транспортной цепи (ионы  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ).

### **Работа электрон-транспортной цепи**

В матриксе митохондрий происходят реакции расщепления субстратов, сопровождаемые высвобождением носителей энергии – электронов и протонов. Их акцепторами являются коферменты, такие как NADH, NADPH и  $\text{FADH}_2$ . Основная функция митохондрий состоит в синтезе молекул АТФ, запасующих энергию, которая может быть использована для транспорта ионов металлов через мембраны против градиента концентрации, создания трансмембранного электрического потенциала, синтеза других субстратов, или репликации митохондриальной и ядерной ДНК. Для передачи электронов с молекул NADH и  $\text{FADH}_2$  во внутренней мембране митохондрий существует электрон-транспортная цепь.

По сути, электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) представляет собой последовательность окислительно-восстановительных реакций, осуществляемых различными сопряженными парами (окислительно-восстановительными парами) [5]. Компоненты ЭТЦ – белки, содержащие небелковые

компоненты, реализующие окислительно-восстановительные реакции (сопряженные пары): железо-серные группы, ионы меди и флаavinмоноклеотид (FMN), а также убихинон. Все компоненты ЭТЦ разделены на 5 комплексов, обозначаемых латинскими цифрами, которые локализованы во внутренней мембране митохондрий.

В первом комплексе (комплекс I) ЭТЦ 2 электрона и протон переносятся с молекулы NADH на FMN с образованием FMNH<sub>2</sub>•. Затем электроны поступают на железо-серные группы. От железо-серных групп электроны переносятся на кофермент Q (убихинон).

Комплекс II представляет собой фермент сукцинат дегидрогеназу, роль которого состоит в связывании образовавшихся свободных радикалов.

Комплекс III включает две разные формы цитохрома b, один FeS-белок и цитохром c. Этот комплекс принимает электроны от комплекса I и передает их на комплекс IV.

Комплекс IV (цитохромоксидаза) содержит цитохром a, цитохром a<sub>3</sub> и два иона меди. Далее электроны поступают на АТФ-синтазу, осуществляющую связывание АДФ и фосфатной группы с образованием молекулы АТФ. Перенос электронов комплексом a-a<sub>3</sub> включает реакции:



Комплекс V представляет АТФ-синтазу.

Основная задача ЭТЦ состоит в перемещении протонов водорода в межмембранное пространство, что достигается путем транспорта электронов по ЭТЦ, вслед за которыми осуществляется транспорт протонов. Последовательность расположения акцепторов электронов в ЭТЦ состоит в том, что их стандартные окислительно-восстановительные потенциалы становятся более положительными. Увеличение окислительно-восстановительного потенциала соответствует увеличению сродства вещества к электронам, что обеспечивает поступательное перемещение электронов.

ЭТЦ осуществляет перемещение электронов к кислороду с последующим его восстановлением. Как и электроны, окисленный кислород является продуктом расщепления субстратов и в случае накопления супероксида кислорода функция АТФ-синтазы угнетается. Регуляция и элиминация избыточного количества супероксида кислорода осуществляется супероксид дисмутазой и убихиноном. Таким образом, причинами накопления кислородных радикалов является несогласованная активация дегидрогеназного комплекса расщепления субстратов в процессе гликолиза или цикла трикарбоновых кислот, а также несостоятельность механизмов ЭТЦ, осуществляющей перенос электронов за счет окислительно-восстановительного потенциала ее компонентов, прежде всего, содержащих ионы железа и меди.

### Участие ионов металлов в репликации ДНК

Ионы двухвалентных металлов принимают участие в механизмах репликации ДНК. Двухвалентные ионы металлов представлены в 3-х активных центрах ДНК-полимеразы и отвечают за связывание фермента с нуклеотидами, а также за стабилизацию такого взаимодействия [99]. Кроме этого, участие двухвалентных ионов металлов предполагается в механизмах реализации функций каталазных ферментов, эндонуклеазы V, а также рибонуклеазы H и других реакциях фосфорилирования. Было установлено, что ионы  $Mg^{2+}$  активно связывались с активными центрами ДНК полимеразы и стимулировали репликацию и синтез пептидных молекул [156].

В исследовании было показано, что присутствие конкретного одновалентного ( $K^+$ ) или двухвалентного иона металла ( $Ca^{2+}$  или  $Mg^{2+}$ ) определяет точность связывания полимеразы с субстратом, что зависит от конформации молекулы и расстояния между взаимодействующими центрами. В различных примерах одни ионы имеют преимущество перед другими, например, ионы  $Mg^{2+}$  могут иметь преимущество перед ионами  $Mn^{2+}$ , в одном случае, в других случаях в качестве связывающего иона могут выступать ионы  $Ca^{2+}$ . Эти данные подтверждают ведущую роль обмена ионов металлов в реакциях фосфорилирования, включая механизмы редупликации и репарации ДНК.

Представленные данные заставляют сделать предположение о возможных причинах мутагенеза, возникающих вследствие нарушения минерального состава внутренней среды организма человека. Но, возможно, эти опасения не обоснованы по причине ведущей роли первичной структуры ферментов, участвующих в репликации ДНК (ДНК-полимеразы и других). Известно, что нарушения кодирования и изменение структуры ДНК-полимеразы  $\eta$ , приводят к повышению количества ошибок репликации ДНК, проявлению мутагенности [99]. Следовательно, участие ионов металлов, отвечающих за точность репликации вторичное, и не может быть причиной ошибок. Вероятно, роль металлов переменной валентности состоит не в непосредственном образовании активных центров репликации, где «работают» двухвалентные и одновалентные ионы металлов, участвующих в структуре полимеразы. Роль металлов переменной валентности заключается в накоплении субстрата фосфорилирования в ядре клетки, что относится к энергетически зависимым процессам. Иными словами, металлы переменной валентности отвечают за энергетические и субстратные условия экспрессии генов, репликации и репарации ДНК, повышают метаболическую активность биологических тканей.

## Металлы переменной валентности и колебательные окислительно-восстановительные реакции

В 1951 г. советский химик Б.П. Белоусов, пытаясь найти неорганический аналог цикла Кребса, описал окисление лимонной кислоты броматом калия, катализатором которой были тоны  $\text{Ce}^{3+}$  [23,30]. Колебательный характер реакции объясняется многостадийностью переноса электронов между субстратом, окислителем и катализатором, в роли которого выступают ионы церия с образованием многочисленных промежуточных продуктов, имеющих определенный период накопления и расхода в химической реакции. Позже в 1964 г. А.М. Жаботинский показал, что катализаторами могут быть другие металлы переменной валентности – Fe и Mn, а в роли субстрата – малоновая и броммалоновая кислоты. К классу автоколебательных систем относятся колебания в метаболических системах, периодические процессы фотосинтеза, колебания концентрации кальция в клетке, колебания в сердечной мышце, колебания численности животных в популяциях и сообществах и другие [23]. Классическим примером колебательной биохимической реакции является гликолиз. Кроме этого, участие кальция в автоколебательных процессах и способность ионов  $\text{Mn}^{2+}$  блокировать кальциевые каналы мембран мышечных клеток были продемонстрированы методами эксперимента и построения математической модели. При этом ионы  $\text{Mn}^{2+}$  останавливали автоколебательные процессы электрофизиологического состояния клеточных мембран [28].

Окислительно-восстановительные реакции в биологических средах относятся к автоколебательным, они характеризуются периодами или фазами окисления и восстановления с преобладающей активностью соответствующих ферментов, образованием или поглощением активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления. Фазы образования пероксидов и их поглощения имеют свои временные рамки, и общий цикл колебательной реакции характеризуется определенным периодом времени. Важнейшими активными формами кислорода являются супероксидный

( $O_2^{\cdot-}$ ) или в протонированной форме — гидроперекисный ( $HO_2^{\cdot}$ ) и гидроксильный ( $OH^{\cdot}$ ) радикалы. Являясь короткоживущими, они превращаются в озон ( $O_3$ ), синглетный кислород ( $^1O_2$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ) под действием ферментов, важнейшими из которых являются супероксид дисмутаза и каталаза.

Каталаза является ферментом тканевого дыхания, роль которого заключается в разложении пероксида водорода, в результате чего образуется вода и молекулярный кислород:



В структуре фермента содержится окисленный гем. В состав активного центра каталазы входит железо, меняющее свою валентность в процессе катализируемой реакций [22]. Четыре железосодержащие группы каталазы позволяют ферменту взаимодействовать с молекулами перекиси водорода. Это формирует новую молекулу воды, и освобожденный атом кислорода затем вступает в реакцию с другой молекулой перекиси водорода с образованием воды и молекулы кислорода [17,81].

Регистрация избыточного накопления активных форм кислорода обычно проводится на основе определения концентрации  $H_2O_2$  или окисленных субстратов. Известно, что скорость ферментов супероксид дисмутаза (СОД) и каталазы превышает  $10^6 s^{-1}$ , активация ферментов происходит периодически по колебательному закону. Нарушение необходимой периодичности приводит к усилению перекисного окисления липидов сверх нормального уровня, изменяет вязкость, текучесть, проницаемость и другие параметры мембран, запускает каскад  $Ca^{2+}$ -зависимых реакций, ведущих к разобщению окислительного фосфорилирования, включению ферментов каскада арахидоновой кислоты и глубоким изменениям метаболизма клетки [4]. Окислительно-восстановительные реакции имеют большое значение в регуляции биохимических механизмов в сыворотке крови и внеклеточной жидкости, клеточных мембранах, цитозоле, митохондриях и реализации генетических механизмов в ядре клеток.

В научной литературе представлено множество публикаций об участии металлов переменной валентности в регуляции процессов окислительного фосфорилирования, где активную роль играют ионы  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ . Железосерные кластеры ( $Fe-S$ ;  $2Fe-2S$ ;  $4Fe-4S$ ) принимают участие в переносе электронов в электронтранспортной цепи на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий. Они передают электроны с комплексов I, II и III на цитохром c. В некоторых ситуациях железосерные кластеры участвуют в образовании активных форм кислорода, что служит пусковым механизмом к развитию ряда заболеваний. Имеются данные о том, что железосерные кластеры необходимы для синтеза стероидов в надпочечниках. Являясь структурирующим

звеном нескольких энзимов, они принимают участие в редупликации и репарации ДНК. Железо-серные кластеры встраиваются в структуру белковых молекул путем связывания ионов железа с остатками цистеина, в то время как ионы серы связывают ионы железа между собой [142].

Двухвалентные ионы металлов активно дополняют работу металлов переменной валентности и, возможно, являются необходимым элементом для проявления их активности. Согласно опубликованным данным медь играет роль антиоксиданта, участвуя в формировании активных центров цитохром с оксидазы, участвующей в электрон переносающей цепи митохондрий. Цитохром с оксидаза содержит 3 иона Cu и принимает электроны от железосодержащего цитохрома с [114]. Фермент имеет два Fe-содержащих ( $\text{Fe}^{3+}$ ) и два Cu-содержащих центров. При этом ионы Cu имеют переменную валентность. Ионы  $\text{Cu}^{2+}$  проявляют свойства оксидантов (способны к захвату электронов), в то время как ионы  $\text{Cu}^+$ , наоборот, являются восстановителями. Следует отметить, что цитохром с оксидаза содержит также ионы  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ , которые участвуют в стабилизации канала, где утилизируемый ферментом кислород, соединяясь с другими активными формами, превращается в молекулы воды. Ионы  $\text{Zn}^{2+}$  также участвуют в работе цитохром с оксидазы, поддерживая структуру фермента.

Предполагается, что содержание металлов в цитохром с оксидазе регулирует ее активность за счет конформационных изменений [118]. Эти данные позволяют предположить, что изменение соотношения ионов Fe, Cu, Mn/Mg и Zn, поступающих во внутреннее пространство митохондрий, может влиять на активность цитохром с оксидазы и определять количество накопленных кислородных радикалов, блокирующих синтез молекул АТФ.

Ионы  $\text{Mn}^{2+}$  принимают участие в превращении супероксидного радикала в перекись водорода. Считается, что избыток  $\text{Mn}^{2+}$  в митохондриях может привести клетку к гибели за счет чрезмерное накопления  $\text{H}_2\text{O}_2$  [146].

Ионы  $\text{Mn}^{2+}$  транспортируются в клетку путем взаимодействия с белком транспортером двухвалентных ионов (DMT1), играющего существенную роль в транспорте  $\text{Fe}^{2+}$  и других двухвалентных ионов, но, кроме этого, через белки ZIP8, потенциал зависимые и депо-кальциевые каналы, а также посредством эндоцитоза, опосредованного рецептором трансферрина. Известно, что одновременное потребление Mn снижает потребление Mg и Cd, но потенцирует поступление Ca в клетку [91,112,128]. Тем не менее, наука имеет недостаточно данных о том, как ионы металлов проникают через внутреннюю митохондриальную мембрану. Возможно, что они встраиваются в белковые молекулы ферментов в межмембранном пространстве, состав которого не отличается от состава цитозоля. В этом случае соотношение ионов металлов в крови может влиять на про-

цессы накопления энергии также, как на процессы редупликации ДНК и экспрессии генов, но пропорционально синтезированным промоллекулам ферментов. Недостаточное содержание ионов металлов может быть опасно для нарушений процессов накопления энергии, а избыточное потребление ведет к изменению валентности металлов и токсическим проявлениям. Важным элементом проникновения металлов в клетку является соотношение их ионных форм с учетом преимущественного потребления двухвалентных ионов клетками человека.

Может ли содержание ионов металлов изменить скорость накопления доноров электронов и стимулировать работу электрон транспортной цепи в митохондриях, а также накопление молекул АТФ? Вероятно, да. Активность синтеза АТФ зависит от скорости образования электронов, активации процессов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, что ведет к накоплению молекул NADH и FADH<sub>2</sub>, способных отдать энергию электронов на перенос протонов в межмембранное пространство [97,100]. Но электроны могут поступать из различных источников. Небольшое количество NADH образуется в процессе гликолиза, окислительного фосфорилирования пирувата и пентозофосфатного пути метаболизма глюкозы. Максимальное количество энергии дает цикл трикарбоновых кислот. Процессы гликолиза протекают в цитозоле и молекулы NADH не способны проникать в митохондрии. Для переноса электронов в митохондрии необходима глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, способная переносить электроны с NADH на молекулы FADH<sub>2</sub>. Эти процессы протекают с участием двухвалентных ионов. Ионы магния Mg<sup>2+</sup> стимулируют превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат в цитозоле. Ионы кальция Ca<sup>2+</sup> стимулируют пируваткиназный комплекс реакций, ведущий к синтезу Ацетил-КоА во внутреннем пространстве митохондрий.

Механизмы влияния ионов металлов переменной валентности на процесс накопления и утилизации электронов в митохондриях остается недостаточно изученным. Предположительными точками их активного участия являются транспорт электронов через внутреннюю митохондриальную мембрану и процессы утилизации избыточных электронов в рамках антиоксидантной защиты, предупреждения образования супероксидного, гидроперекисного и гидроксильного радикалов.

## **Проблема митохондриальной дисфункции в клинической медицине**

Термин «митохондриальная дисфункция» в последние годы стал часто появляться в научных медицинских публикациях. При этом четкого определения этого патологического состояния, видимо, не существует. Авторы единодушны в том, что митохондриальная дисфункция состоит в проблеме дефицита накопления АТФ в клетке, но указывают на несколько смежных вариантов патологических состояний: 1) генетические мутации в структуре ядерной ДНК, ответственные за синтез ферментов окислительного фосфорилирования, образования NADPH и FADH<sub>2</sub> или белков электротранспортной цепи митохондрий; 2) генетические мутации митохондриальной ДНК; 3) дефицит поступления субстратов окислительного фосфорилирования в клетку или в митохондрии; 4) нарушение трансмембранного потенциала митохондриальной мембраны [133]. Возможно, что проблема митохондриальной дисфункции не ограничивается дефицитом синтеза АТФ. Помимо энергообразующей «традиционными» функциями митохондрий являются формирование электрического потенциала и термогенез. Имеются ограниченные сведения об участии митохондрий в поддержании кальциевого гомеостаза клетки, окислительно-восстановительного равновесия, продукции биологически активных метаболитов, осуществляющих эпигенетическую регуляцию благодаря реакциям метилирования, ацетилирования и фосфорилирования. Митохондриальная дисфункция регулирует клеточный апоптоз. Сигнальные механизмы митохондрий и ядра клетки задействованы в механизмах канцерогенеза и воспалительных процессов [135].

Проблема митохондриальной дисфункции наиболее изучена в области нейродегенеративных заболеваний. Генетически опосредованная митохондриальная дисфункция именуется первичной. Отмечается, что ее проявления возможны в любом возрасте, но в первую очередь, в форме нейродегенеративных процессов детского возраста, в форме аутизма, интеллектуальных дисфункций,

эпилепсии различной степени выраженности. Первичная митохондриальная дисфункция может быть заподозрена клинически, если в детском возрасте имеет место прогрессирующее снижение неврологических функций в сочетании с системными проявлениями в виде нейросенсорной тугоухости, задержки развития, гепатопатии или кардиомиопатии, а также эпилепсии, интеллектуальных нарушений и широкого спектра проявлений аутизма [135]. Возможно, механизмы первичной и вторичной митохондриальной дисфункции при различных ее клинических проявлениях различаются. В том числе, высказана точка зрения об участии митохондриальной дисфункции в патогенезе хронической сердечной недостаточности [130].

Процессы роста и воспаления тесным образом взаимосвязаны с состоянием и функцией митохондрий. Так, известно, что факторы роста фибробластов (FGF19, 21 и 23) активно участвуют в регуляции метаболических процессов. FGF21 активно экспрессируется в ткани печени, сердца, бурой жировой ткани и поджелудочной железы, где регулирует процессы эндо- и экзокринной секреции. Описано его участие в поддержании нормальной структуры и функции митохондрий. FGF21 соединяется с  $\beta$ -Klotho и его корцептором FGFR, чтобы способствовать удалению поврежденных клеточных митохондрий посредством митофагии. Процессы поддержания жизни клеток в нерегенерируемых тканях, таких как нервная ткань головного мозга, сосудистая оболочка глаза, глазной нерв, ствол мозга и спинной мозг обеспечиваются в том числе благодаря регуляции функций митофагии и митоцитоза. Известно также, что в мигрирующих клетках, таких как нейтрофилы митоцитоз опосредуется функцией мигросом, что обеспечивает выживание клеток организма человека под воздействием стрессорных гормонов или при изменении клеточного потенциала [117]. Одним из факторов, способных вызвать повреждение митохондрий, является оксидативный стресс, накопление супероксид-аниона и других продуктов перекисидации во внутреннем пространстве митохондрий.

Митохондрии не способны синтезироваться заново, но описанные процессы контроля состояния и удаления поврежденных митохондрий позволяют митохондриальной популяции омолаживаться за счет непрерывного слияния и деления с адаптивной морфологией в соответствии с клеточными потребностями [110].

Изучение митохондриальной дисфункции проводится различными методами, среди которых морфологическое исследование структуры митохондрий методом электронной, световой микроскопии, определение внутриклеточной АТФ, в том числе методами, основанными на определении свободных ионов  $Mg^{2+}$  в цитозоле, высвобождаемых при гидролизе АТФ. Неинвазивным способом, который позволяет определять АТФ в клетках *in vivo*, является метод ядерной магнитно-резонансной спектроскопии.

Морфология митохондрий различается в зависимости от типа клеток и функционального состояния, что затрудняет определение нормы [113]. В сравнительных экспериментальных исследованиях используют анализ таких параметров количественной оценки, как средний размер, средний объем и средняя длина ветвей митохондрий, оценивают разницу указанных количественных параметров в опыте и в контроле.

### **Методы диагностики**

Функциональную активность митохондрий можно оценить по степени потребления кислорода, например, полярографическим методом с измерением потребления кислорода при помощи электрода Кларка в различных метаболических состояниях по В. Chance. Известен метод респирометрии и оптические методы измерения кислорода. Также предложен цитобиохимический метод оценки системы энергопродукции в лимфоцитах периферической крови. Существует мнение, что оптимальным вариантом оценки митохондриальной энергетики организма должно явиться параллельное исследование функционального состояния митохондрий *in vitro* и *in vivo* с их сопоставлением [125].

Методы измерения потребления кислорода *in vivo* включают методы измерения тканевыми электрохимическими электродами; абсорбционной и ближней инфракрасной спектроскопии; электронной парамагнитно-резонансной оксиметрии; метод оксиметрии, основанный на динамической поляризации ядер; ядерной магнитно-резонансной оксиметрии, методы, основанные на кислород-зависимом тушении флуоресценции металлопорфириновых красителей, а также эндогенного протопорфирина IX [77].

Интересным подходом к оценке биоэнергетики является измерение митохондриального мембранного потенциала, например методом цитофлюорометрии, а также спектрофотометрические методы количественной оценки активности дыхательных ферментов в митохондриях. Измерение уровня АТФ позволяет оценить функциональное состояние митохондрий в клетках и тканях. Скорость синтеза АТФ в митохондриях можно оценить полярографическим либо биOLUMиНесцентным методом, основанным на люциферин – люциферазной реакции, запускаемой АТФ. Для изучения функционального состояния митохондрий измеряют концентрацию кальция, значение митохондриального рН, оценивают продукцию активных форм кислорода и лактата.

Под руководством профессора А.А. Корякина был разработан высокоэффективный метод основанный на амперометрическом детектировании динамики концентрации  $H_2O_2$  с помощью электрода, модифицированного берлинской лазурью [7], модификации которого оказались пригодными для исследования образцов конденсата выдыхаемого воздуха.

Предложен биохимический Биоэнергетический индекс здоровья (БИЗ, ВНИ). Индекс отражает резервы митохондриальной функции. Он рассчитывается на основе определения «запасной дыхательной способности», умноженной на «выработку АТФ митохондриями в условиях стресса», деленной на «измеренную утечку протонов», умноженную на «немитохондриальное дыхание» (гликолиз) [98].

### **Роль митохондриальной дисфункции в клинической медицине**

Митохондриальная дисфункция стала предметом обсуждения при многих хронических заболеваниях человека. В 2021 году опубликован обзор исследований функции энергопродукции у больных с Covid-19 и постковидным синдромом [153]. Авторы полагают, что синдром хронической усталости встречается до 40% случаев развития постковидного синдрома, и патогенез этого состояния идентичен миалгическому энцефаломиелиту с синдром хронической усталости. Клинически синдром проявляется выраженной постнагрузочной усталостью, не исчезающей в покое, а также болью, выраженными когнитивными нарушениями, бессонницей или чувством неудовлетворенности после сна, повышенной чувствительностью к свету и звукам, которые продолжаются более 6 месяцев. Синдром хронической усталости является одним из основных проявлений постковидного синдрома и требует активного специального лечения [84]. Болезнь в большей степени характерна для женщин, чем для мужчин. Одним из наиболее вероятных вариантов патогенеза указанного синдрома является митохондриальная дисфункция, проявляющаяся снижением продукции АТФ и морфологическими изменениями митохондрий в клетках скелетной мускулатуры.

Ряд авторов установили, что причиной снижения продукции АТФ является нарушение работы АТФ-синтазы, вероятно вызванной накоплением супероксид аниона в результате активации окислительного фосфорилирования и других механизмов активации электрон переносящей цепи. В результате митохондрии оказываются неспособными к продукции дополнительного количества молекул АТФ под влиянием стресса или физической нагрузки. Учитывая полученные факты, было предложено применение антиоксидантов для коррекции синдрома хронической усталости у больных, перенесших коронавирусную инфекцию. В первую очередь среди потенциальных факторов были названы витамин Е и коэнзим Q (CoQ10).

### **Методы коррекции митохондриальной дисфункции**

Традиционно для коррекции митохондриальной дисфункции в неврологической практике и лечении поражений зрительного нерва применялись витамины К1 и К3, коэнзим Q10, янтарная кислота, цитохром С, кофакторы энергообмена (витамины РР, В1, В2, липоевая кислота, биотин,

карнитин) и другие достаточно известные препараты [14]. Между тем, убедительных результатов клинических исследований представлено не было, что побуждает к поиску новых, патогенетически обоснованных и эффективных лекарственных форм.

Для коррекции митохондриальной дисфункции у больных с синдромом хронической усталости предлагались D-рибоза (углеводный фрагмент молекулы АТФ), метилфенидат (Риталин®), содержащий витамины и минералы, дихлорацетат натрия – ингибитор пируватдегидрогеназы и гликолиза.

Наиболее патогенетически оправданным является применение препаратов, содержащих CoQ10, так как концентрация этого регулятора редокс потенциала часто снижается в плазме крови и митохондриях периферической крови у больных с синдромом хронической усталости, что коррелирует с клинической оценкой выраженности симптомов и снижением продукции АТФ в клетках. Факторами, влияющими на синтез АТФ у больных с синдромом хронической усталости, были установлены дефицит магния, низкий уровень CoQ10 и дисфункция трансмембранной транспортной Na/K – АТФ-азы [123]. Кроме CoQ10 для коррекции синдрома хронической усталости предложен комплекс NADH и CoQ10 [96]. Вместе с тем некоторые исследования не подтвердили эффективность лечения CoQ10 больных со вторичным синдромом хронической усталости. Для улучшения проникновения CoQ10 в клетки и митохондрии предложен его аналог mitoquinolmesylate [120].

Другим потенциальным корректором митохондриальной дисфункции у больных с постковидным синдромом является цитофлавин. Цитофлавин представляет собой комплекс из двух метаболитов (янтарная кислота – эндогенный внутриклеточный метаболит цикла Кребса, выполняющий в клетках универсальную энергосинтезирующую функцию, и инозин – предшественник АТФ) и двух коферментов-витаминов (рибофлавин, витамин В2 – активатор сукцинатдегидрогеназы, и никотинамид, витамин РР – активатор никотинамид-зависимых ферментов цикла Кребса) [72]. Цитофлавин вводится внутривенно капельно по 10 мл препарата на 100 мл 0,9% раствора натрия хлорида со скоростью введения 3-4 мл/мин. Курс лечения состоит из 10 ежедневных инфузий в начале курса реабилитации. Ограниченные сравнительные наблюдения показали восстановление толерантности к физическим нагрузкам, снижение выраженности слабости, сердцебиения и одышки в процессе физической активности, уменьшение астенизации и восстановление эмоциональной сферы.

Для коррекции постгиперцитокиновой астении предложено применение органических кислот, содержащих свободные гидроксильные группы в ароматическом кольце, обладающих антиоксидантной активностью. В экспериментах на крысах положительные результаты были получены

в отношении коричных кислот, но клинические наблюдения в настоящее время не представлены [54].

Для коррекции избыточного накопления гидроксильных радикалов ( $\bullet\text{OH}$ ) и перокси-нитрита ( $\text{ONOO}^\cdot$ ), играющих существенную роль в развитии синдрома хронической усталости у больных, перенесших коронавирусную инфекцию предложены ингаляции активных форм водорода. Ингаляционная терапия активными формами водорода ( $\text{H}(\text{H}_2\text{O})\text{m}$ ) проводилась через носовую канюлю (Intersurgical Ltd, Великобритания), соединенную с аппаратом “SUISONIA” (Япония) ежедневно, на протяжении 10 суток, в течение 90 мин. В результате лечения отмечена положительная динамика в виде уменьшения проявлений скрытой гипоксемии, повышения толерантности к физической нагрузке, снижения эндотелиальной дисфункции. Положительная клиническая динамика сопровождалась нормализацией метаболизма лактата и снижением фракции внутрилегочного шунтирования крови справа-налево [87]. Под влиянием ингаляционной терапии активными формами водорода изменился протеом конденсата выдыхаемого воздуха, установлено снижение провоспалительных маркеров, нормализовались показатели фагоцитарной активности лейкоцитов [64,70].

Для коррекции первичной митохондриальной дисфункции современным методом лечения является применение генетического вектора. Предложены набор олигонуклеотидов для синтеза генетической конструкции, предназначенной для коррекции митохондриальной дисфункции, вызванной «основной делецией», генетическая конструкция и способ доставки генетической конструкции в митохондрии клеток человека. Предложенная группа изобретений обеспечивает более эффективное встраивание генетической конструкции в митохондрии клеток человека и снижение вероятности изменений в ядерном геноме [52].

В итоге можно отметить, что проблема синтеза и обеспечения организма человека энергией оказалась достаточно глобальной и охватывает множество заболеваний, как генетически обусловленных (первичных), так и приобретенных в результате инфекции или метаболических нарушений. В настоящее время идет активный поиск методов оценки функциональной активности митохондрий, вырабатываются критерии для клинической практики, идет активный поиск препаратов, способных восстанавливать продукцию АТФ и функциональные резервы митохондрий у человека. Одну из первых позиций в списке возможных механизмов действия новых препаратов занимают антиоксидантные свойства, предупреждающие патологическое торможение активности АТФ-синтазы кислородными радикалами.

## Лекарственные препараты ионов металлов в клинической практике

Соли различных металлов активно применяются во всех областях медицинской практики, включая наружный, внутривенный, пероральный методы и орошения слизистых. Прежде всего, речь идет о т.н. физиологическом или 0,9% растворе NaCl. Несмотря на то, что раствор не является идентичным по концентрации ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в сыворотке крови, он позволяет эффективно замещать объем внутрисосудистой жидкости, поддерживать АД. Это основной кристаллоидный раствор. При значительных потерях крови, жидкости и солей, кроме компонентов крови и крове-заменителей (коллоидных растворов), активно используются кристаллоидные растворы с добавлением NaCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ , KCl, карбонатов для коррекции кислотно-основного состояния [3]. Солевые растворы применяются в лечении инфекционных и других воспалительных поражений желудочно-кишечного тракта [40]. Комбинация KCl и  $\text{MgSO}_4$  активно применялась в кардиологической практике в сочетании с раствором 5% глюкозы. Считалось, что такая комбинация ионов стабилизирует электрический потенциал клеточной мембраны кардиомиоцитов, клеток проводящей системы, препятствует развитию аритмии. В качестве аргумента эффективности такого лечения приводятся данные о частоте возникновения тахикардических состояний в случае гипокалиемии. Избыточная концентрация ионов  $\text{K}^+$  в сыворотке крови нарушает атрио-вентрикулярное проведение электрического импульса, т.е. снижает возбудимость клеток проводящей системы сердца. Предполагается, что калий, введенный внутривенно, проникает внутрь клеток, несмотря на известные энергозатратные, АТФ-зависимые, механизмы, необходимые для обмена ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . [37,38].

Хлорид кальция ранее был рекомендован в качестве гемостатического средства, т.к. являясь компонентом системы гемостаза, стимулирует коагуляционную активность, останавливает кро-

вотечение [56]. Регуляция его внутриклеточного содержания стала предметом обсуждения при изучении механизмов избыточного сокращения гладкомышечных клеток средней оболочки артерий у больных артериальной гипертензией, и привело к внедрению в клиническую практику блокаторов медленных кальциевых каналов в качестве гипотензивного средства [36].

Известен антагонизм препаратов ионов кальция и магния. Магнезия (25% раствор  $MgSO_4$ ) введенная внутривенно, снижает артериальное давление. В гастроэнтерологической практике 33% раствор  $MgSO_4$  применялся при дуоденальном зондировании для раскрытия сфинктера Одди, т.е. в качестве спазмолитического и желчегонного средства. Жженая магнезия (оксид магния) использовалась для лечения в качестве слабительного средства, обладает антацидными свойствами [45,78].

Калиевая соль марганцевой кислоты ( $KMnO_4$ ) – перманганат калия – стал средством наружной дезинфекции. Известны противогрибковые свойства этого соединения, проявляющего выраженные окислительные свойства. Перманганат калия входит в состав ряда препаратов наружного применения в дерматологической практике [59,76].

Препараты железа в пероральной или парентеральной форме играют ключевую роль в лечении железодефицитной анемии. Феррум Лек, Сорбифер Дурулес, Тотема, Мальтофер – вот далеко не полный перечень современных лекарственных средств. Основное различие этих лекарственных форм заключается в применении  $Fe^{2+}$  (чаще в форме сульфатов) или  $Fe^{3+}$ . Монопрепараты железа чаще содержат  $Fe^{3+}$ , например, Феррум Лек, Мальтофер, в форме полимальтозы или в комплексе с белковым носителем (Ферлатум). Двухвалентная форма присутствует в препаратах Фенюльс, Сорбифер Дурулес, Тотема и др., чаще в комбинации с различными кислотами – аскорбиновой (Фенюльс, Сорбифер), лимонной (Тотема) и др. Особенностью препарата Тотема является комбинация с другими металлами переменной валентности – медью и марганцем. В случаях невозможности приема препаратов внутрь или необходимости быстрого насыщения организма применяют внутривенные формы, например ферринжент ( $Fe^{3+}$  в комплексе с декстраном) [21].

Сравнительные исследования применения препаратов железа на основе его двухвалентной и трехвалентной формы в комбинации с гидроксиполимальтозным комплексом не показали значимых различий в эффективности, несмотря на большее количество нежелательных явлений в случае применения двухвалентной формы, что отмечено рядом исследователей [41]. Это обстоятельство представляется интересным с точки зрения различных реакций, вызываемых ионами железа различной валентности. Двухвалентное железо является донором электронов – восстановителем, а трехвалентная форма – окислителем при участии в окислительно-восстановительных реакциях. Тем не менее, железистые природные минеральные воды, ранее активно применявши-

еся для лечения анемических состояний и общеукрепляющего действия на организм человека, содержат  $\text{Fe}^{2+}$ , который при контакте минеральной воды с воздухом активно превращается  $\text{Fe}^{3+}$ . Образуется оксид трехвалентного железа, выпадающий в осадок, что является причиной изменения биологических реакций и ограничивает возможность хранения природных железистых минеральных вод [29].

Препараты, содержащие оксид цинка, нашли применение в качестве наружных противовоспалительных средств. Активно применяется цинковая мазь на основе оксида цинка. В глазных болезнях применяют мазь и капли, содержащие сульфат цинка при воспалительных заболеваниях конъюнктивальной оболочки. В справочнике Vidal [82] приводится описание препарата для внутреннего применения. В качестве фармакологического действия указаны: коагуляционная активность, являющаяся основой антибактериального эффекта, регенерация кожи и роста волос, иммуномодулирующее действие. Препарат эффективен в лечении угревой сыпи и алопеции. Цинк коагулирует белки с образованием альбуминатов. При местном применении оказывает антисептическое, вяжущее, подсушивающее и противовоспалительное действие. Кроме внутреннего и наружного применения указываются показания для местного применения: конъюнктивит, блефарит; профилактика бактериальной инфекции при попадании инородного тела в конъюнктивальную полость. Считается, что применение препарата цинка внутрь нарушает всасывание ионов меди.

В целом следует отметить, что точного понимания механизмов действия ионных и солевых препаратов в большинстве случаев нет. Рекомендации о медицинском использовании таких препаратов основаны на длительном опыте и наблюдениях, но не подкреплены экспериментальными исследованиями и доказательствами сравнительного исследования. Многие из ранее применяемых средств уступили место новым методам лечения, имеющим понятный механизм действия и доказательную базу.

Среди перспективных направлений применения ионных форм металлов следует отметить препарат сульфодиазина серебра для лечения ожогов кожи [106]. Но, совсем недавно было обнаружено, что комплексные препараты, содержащие ионы металлов переменной валентности, существенно эффективнее монопрепаратов на основе ионов одновалентных или двухвалентных металлов.

## Комплексные препараты металлов переменной валентности

Недавно, появилась информация о возможностях применения комбинации нитрата церия с сульфодиазином серебра ( $C_{10}H_8AgCeN_4O_5S^{+2}$ ) для лечения ожогов и других повреждений кожных покровов [102]. Препарат оказался эффективнее, чем ранее используемый сульфодиазин серебра в скорости заживления повреждений кожи, однако механизм этого эффекта, по мнению авторов исследования, остается недостаточно изученным.

В исследовании структуры полимерно-солевых композиций было показано, что ионы церия (Ce) могут образовывать сложные оксиды с включением других металлов, например, серебра (Ag), меди (Cu), цезия (Cs), самария (Sm) и празодима (Pr) по общей формуле  $Ce_{1-x}Me_xO_2^{\delta}$ . В результате пиролиза образуются нерастворимые полимерно-солевые соединения, отличающиеся по структуре и поверхностным свойствам. При этом сложный оксид церия и серебра был однородным по структуре, а сложные оксиды церия с другими, перечисленными выше металлами, оказались неоднородными [63]. Различной была и каталитическая активность ионов церия в зависимости от структурных свойств образованного соединения.

Медицинское применение нанокристаллических структур оксида церия (IV) обсуждается в ряде научных публикаций и диссертационных исследований [11,122,138]. Было продемонстрировано, что  $CeCl_3$  стимулирует пролиферацию фибробластов в концентрациях 5-10%, 10 mM до 100 mM, что ассоциировано с экспрессией генов циклинов B1, D1 и E1. В исследованиях продемонстрирована и стимуляция миграционной активности клеток низкими дозами хлорида церия. Возможно, свойства, обусловленные низкими концентрациями, связаны со стимуляцией NADH-оксидазы, а также быстрым увеличением концентрации глутатиона. Противоположные эффекты были выявлены при увеличении дозы хлорида церия более 0,1 г/л, что сопровождалось снижением функции клеточных митохондрий.

Авторы считают, что наноразмерные частицы позволяют оксиду церия (IV) регулировать окислительно-восстановительные реакции [32]. Тем не менее, исходя из оценки результатов ряда других научных исследований, посвященных проявлению ионами церия окислительно-восстановительных свойств, можно предположить, что такая активность реализуется наилучшим образом в паре двух металлов, либо в присутствии третьего химического элемента, способствующего развитию колебательных окислительно-восстановительных механизмов.

Группа корейских ученых из Национального университета Сеула получила наночастицы оксида церия с поверхностным слоем смешанного оксида марганца (II, III) и использовала их для защиты тканей мыши от воздействия радиации. Такие частицы сохранили жизнь 67 % мышей, облученных радиацией с дозой в 13 грей [110]. Ионизирующая радиация проявляет токсические свойства посредством образования супероксид-аниона и гидроперекисей. Применение металлов переменной валентности обусловлено способностью оксидов церия, марганца и ванадия проявлять антиоксидантные свойства благодаря способности к легкому переходу между стабильными степенями окисления. Дополнительные лиганды увеличивают каталитическую способность антиоксидантов благодаря увеличению механического напряжения на поверхности наночастицы с архитектурой ядро-оболочка. Для получения наночастиц исследователи использовали затравочные кристаллы диоксида церия. Их погрузили в раствор хлорида марганца – на поверхности начиналась реакция окислительного замещения. Церий частично восстанавливался до степени окисления +3, а марганец окислялся до +3, что и приводило к образованию слоя оксида марганца на поверхности нанокристаллов. Чтобы использовать такие частицы в организме, их покрыли фосфолипидом полиэтиленгликоля. Ученые пришли к выводу, что у поверхности сосредоточены ионы  $Ce^{4+}$  и  $Mn^{2+}$ , так как они лучшим образом соотносятся по размеру, а из-за несовпадения по параметру кристаллической решетки в слоях оксида марганца возникают механические напряжения, приводящие к дефектам в кристаллической решетке. Основной тип дефектов в таких структурах – кислородные вакансии, с помощью которых и происходит подавление реакционноспособных кислородных частиц.

Известна попытка создания комбинированного препарата церия и цинка в форме нанокристаллов на основе нитратов. Были получены наночастицы имеющие состав  $Ce_{1-x}Zn_xO_2$ , и содержащие различное количество ионов цинка. Исследование дозозависимой токсичности полученных частиц на линии клеток Neuro2A не выявило токсичности в концентрации до 31.25 мкг/мл, что позволило авторам рекомендовать созданный продукт к испытаниям на биологических моделях [89].

Другой комбинированный препарат синтезирован на основе частиц оксида цинка с добавлением ионов серебра, что позволило создать частицы размером 27-36 нм с хорошими адгезивными качествами. В результате полимеризации молекул Catechin, обладающего антиоксидантными свойствами, на поверхности этих наночастиц, был разработан гидрогель для местного применения в медицине [121].

Представленные примеры поиска новых неорганических соединений с участием металлов переменной валентности косвенно подтверждают гипотезу о колебательных окислительно-восстановительных реакциях, способствующих проявлению клинического эффекта в виде восстановления функции митохондрий, регенераторной активности и противовоспалительного эффекта. Такие реакции сопровождаются колебательным изменением валентности ионов церия при участии других элементов – акцепторов и доноров электронов.

## Ренериум (соль Вильгортская)

### История, основанная на легенде

Согласно древним легендам, земли пермяков отличались не только обилием зверей и дичи, но имеется множество свидетельств рождения людей, обладающих необыкновенной силой – богатырей. Земли пермяков привлекали викингов, новгородцев, поморов. Один из последних набегов мурмане совершили в 1445 году. Поход был неудачным и большинство пришельцев, включая их предводителей, были убиты в сражениях с местным населением [71,85]. В летописях остались имена русских богатырей: Пера, Искорка, Полюд, Ветлан и других, связанные с историей земли на севере Пермского края, позднее названной Пермью Великой. Природные условия этой местности считаются суровыми, и не могли способствовать появлению людей, отличавшихся большой силой, а факторы биогеоценоза остаются недостаточно изученными.

Земли пермского княжества расположены севернее Соликамска и Березников, известных крупными месторождениями сильвинита, карналита и каменной соли. Соль в этих местах добывали с древних времен, в основном там, где месторождения выходили на поверхность земли. Позднее стали строить шахты. Но в районе древнего Исгора и Чердыни, на сто и более километров севернее Соликамска, имеются небольшие месторождения бурого железняка, из которого древние жители выплавляли металл для бытовых нужд и изготовления оружия [26]. Скандинавская технология оружейного дела основана на особой прочности сердцевинной части клинка. Такие свойства металла могли быть обусловлены специальными присадками солей, которыми богата местная земля. Свидетельством активного оружейного производства тех лет служат некоторые исторические названия населенных пунктов, например, село Булатово Красновишерского района. Эти природные богатства также были привлекательной добычей пришельцев.

В 2018 году в районе пос. Вильгорт Чердынского района Пермского края (Россия) были найдены следы магматической породы, содержащей церий, цирконий и алюминий. Позднее в районе Великого Вильгортского болота обнаружены родники со слабой минеральной водой, содержащей ионы церия, марганца, цинка и серебра. Найдены образцы минерала – монацит. В песке заболоченной местности содержится минеральный комплекс, состоящий из солей и оксидов этих металлов, получивший наименование «Соль Вильгортская». В 2021 году на основе природного сырья был разработан лекарственный препарат для ингаляционной терапии больных острыми респираторными заболеваниями, который в первых клинических наблюдениях показал очень высокую активность, значительное уменьшение симптомов острого заболевания после однократной ингаляции, и более высокую активность при курсовом 5-кратном применении.

### **Состав и технология производства лекарственного препарата**

Препарат из природного сырья представляет солевую композицию с содержанием ионов церия (Ce), марганца (Mn), цинка (Zn) и серебра (Ag), но в микромолярных количествах. Исследования на лабораторных крысах подтвердили восстановление структуры поврежденного дыхательного эпителия и противовоспалительные свойства нового солевого состава, за что препарат получил название Ренериум [47].

Первоисточником церия и лантана Верхнекамского бассейна являются россыпи и компактные образования, представленные монацитом – минералом, содержащим фосфаты церия и лантана. Были обнаружены минеральные водные источники, области разрушенной горной породы минералов в виде песка и горной породы, содержащей монацит. Природная минеральная база использована для получения растворов малой минерализации с содержанием ионов церия, которые стали сырьем для создания ионных препаратов для ингаляционной терапии и средств для лечения кожных ран и заболеваний слизистых.

В природной среде церий представлен нерастворимыми, а также растворимыми солями и оксидами. Сырье (минеральная вода, песок, горная порода) содержат большое количество других химических элементов, микроколичества которых могут оказывать биологическое действие на организм человека. Результаты исследования горной породы и песка показали повышенное содержание лития, ванадия, хрома, цинка, галия, рубидия, стронция, циркония, бария, лантана, церия, ниодима и гафния. Часть этих элементов могут быть представлены в ионизированной форме и переходить в растворы, что соответствует данным, полученным при исследовании источников воды в данной местности, другая часть представлена нерастворимыми оксидами и солями. Первый минералогический анализ водного экстракта песка – источника микроэлементов для

получения минерального лекарственного препарата – показал достаточно высокую концентрацию церия (Ce) – 4,2 мкг/л, что позволило использовать его в качестве исходного продукта для получения лекарственного препарата. Содержание церия в песчаной смеси «Песок Верхнекамского месторождения» составило 8-9 мг/кг. В водном источнике, расположенном в непосредственной близости от места залегания горных пород, обогащенных церием, содержание ионов составило 0,35-0,50 мкг/л. Исследования образцов горной породы проводились в Горном институте Пермского Федерального исследовательского центра УрО РАН (г. Пермь) и в Аналитическом сертификационном испытательном центре (АСИЦ, г. Москва) с применением масс-спектрального анализа с индуктивно-связанной плазмой, а также атомно-эмиссионного анализа с индуктивно-связанной плазмой по методике НСАМ № 499-АЭС/МС на масс-спектрометре X SERIES («Thermo Scientific», США) и атомно-эмиссионном спектрометре iCAP 6500 Duo («Thermo Scientific», США).

Результаты проведенных исследований позволили предложить несколько вариантов получения стерильного стандартного раствора минерального комплекса на 0,9% физиологическом растворе хлорида натрия. Исследование минеральных растворов проводилось в лаборатории наноминералогии геологического факультета ФГБОУ ВО ПГНИУ (руководитель сектора наноминералогии Б.М. Осовецкий) методом масс-спектрального анализа с индуктивно связанной плазмой на приборе НСАМ № 480-Х. Итогом этого этапа исследования стал первый лекарственный солевой препарат, содержащий ионы церия в концентрации 0,35-0,50 мкг/л, марганца 10-20 мкг/л, цинка 5-7 мкг/л и серебра 0,15-0,20 мкг/л.

Проведено сопоставление полученных концентраций микроэлементов с гигиеническими нормативами «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» ГН 2.1.5.1315-03", утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 27 апреля 2003 года [57], а также Санитарными правилами и нормами САНПИН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания», утвержденных Постановлением Главного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 2 [69]. В отношении химических элементов 2-3 классов опасности, выявленных при микрохимическом анализе препарата «Ренериум», анализ предельно допустимых концентраций показал, что ПДК на химические элементы высоких классов опасности не превышены.

## **Ренериум. Доклинические исследования**

Доклинические исследования были выполнены на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России под руководством заведующей кафедрой фармакологии, заведующей ЦНИЛ профессора Г.П. Вдовиной. План исследований включал оценку острой токсичности, а также сравнительное исследование эффективности нового препарата Ренериум в экспериментальной модели острого бронхита у крыс и модели плоскостной кожной раны.

### **Оценка острой токсичности**

Доклинические исследования острой токсичности проведены на лабораторных мышах и крысах с соблюдением правил биоэтики в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур университета, которые соответствуют правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей (Страсбург, 1986). Использованы мыши и крысы вивария ПГМУ. Животных содержали в стандартных условиях, соответствующих санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51) [67], Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [24], и стандартным операционным процедурам отдела доклинических исследований Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ).

Исследования проведены на лабораторных животных: неинбредные крысы (*Muridae Rattus*); белой окраски шерсти (альбиносы) общим количеством 20 животных, из них 10 половозрелых самок (массой  $250,0 \pm 20,2$  гр.) и 10 самцов (массой  $310,0 \pm 18,7$  гр.) в возрасте 16 недель; мышь лабораторная белой окраски шерсти (альбиносы) общим количеством 20, из них 10 половозрелых самок (массой  $18,0 \pm 1,0$  гр.) и 10 самцов (массой  $21,5 \pm 2,0$  гр.).

Использованные животные были свободные от носительства: *Chlamidia spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Pasteurellaceae/Pasteurella spp.*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococci  $\beta$ -haemolytic*, *Citrobacter rodentium*, *Clostridium piliforme*, *Corynebacterium kutscheri*, *Klebsiella spp.*, эндо- и эктопаразитов (клещей, гельминтов и простейших).

Источник животных: виварий ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.

Маркировка клетки содержала код исследования, пол животных, породу, номер экспериментальной группы, путь введения, дозу, фамилию руководителя исследования, даты начала и окончания эксперимента. Каждому животному присваивали индивидуальный номер путем нанесения на различные участки тела опознавательных знаков биологически безопасным маркером.

Животным давали воду, очищенную и нормированную по органолептическим свойствам, по показателям рН, сухого остатка, восстанавливающих веществ, диоксида углерода, нитратов и нитритов, аммиака, хлоридов, сульфатов, кальция и тяжелых металлов на основании СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» [68]. Воду в стандартных поилках со стальными крышками-носиками давали *ad libitum*.

Животных содержали в отдельных боксах в контролируемых условиях окружающей среды ( $19-25^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности воздуха 30-70%,  $\text{NH}_3$ :  $510 \text{ мг/м}^3$ ,  $\text{CO}_2$ : 50,15 об.%). Световой режим составил 12 часов света и 12 часов темноты. Был установлен режим воздухообмена, обеспечивающий смену около 15-ти объемов помещения в час. Температуру и влажность воздуха регистрировали ежедневно. Никаких существенных отклонений этих параметров в период карантина и в ходе эксперимента не наблюдалось.

В течение исследования каждое животное осматривали ежедневно, согласно стандарту операционных процедур ЦНИЛ «Клинический осмотр». Осуществляли подробный осмотр животного в клетке содержания, в руках и на открытой площадке. Отмечали проявление и выраженность патологических признаков. При остром введении препарата осмотр проводили до введения и через каждые 2 часа после введения препарата в течение суток, далее ежедневно.

Животных лишали корма на ночь перед взвешиванием и эвтаназией, для исключения влияния суточного метаболизма. Доступ к воде не ограничивали.

Препарат вводили животным ингаляционно с использованием компрессионного ингалятора В. Well и герметичной стеклянной камеры (затравочной камеры), так как этот способ введения является аналогом ингаляционного способа применения препарата в клинической практике. Расчёт вводимого количества препарата Ренериум произведён, исходя из веса животного, максимально возможной продолжительности сессии ингаляции, и концентрации вещества в растворе препарата. Ингаляции производили в течение 20 минут, сессию проводили дважды, перерыв между ингаляциями составлял 30 минут.

Расчет дозы препарат выполнен согласно рекомендациям [60] и учетом опубликованных данных о токсичности [46]; Паспорт безопасности в соответствии с ГОСТ 30333-2007 [19]. Согласно опубликованным данным токсические эффекты  $\text{SeCl}_3$  проявляются в дозах от 0,1 гр./л (0,004 ммоль/л) до 10-100 ммоль и обусловлены митохондриальной дисфункцией в условиях накопления супероксид аниона [138]. Предложенная терапевтическая доза ионов церия в препарате Ренериум – 0,5 мкг/л =  $7 \times 10^{-9}$  ммоль, что приблизительно в 100 000 раз меньше токсической. На одну ингаляцию у человека приходится 0,0025 мкг церия, что соответствует  $0,035 \times 10^{-10}$  ммоль. С учетом природного происхождения препарата Ренериум, невозможности увеличения содержания церия в растворе, в исследовании острой токсичности достижение необходимой дозы препарата осуществлялось путем применения двукратной ингаляции препарата Ренериум по 5 мл в течение 20 минут с 30 минутным перерывом. Средняя масса крысы составляла 280 гр., средняя масса мыши составляла 20 гр., что меньше массы среднего человека в 250 и 3500 раз соответственно. Итоговая терапевтическая доза церия на массу тела крыс составила 0,016 мкг/кг. Итоговая терапевтическая доза церия на массу тела мыши составила 0,03 мкг/кг. Превышение терапевтической дозы препарата в тесте острой токсичности составило 20 раз. Указанная дозировка была приблизительно в 20000-22000 раз меньше токсической по данным научных публикаций.

Контрольной группе животных ингалировали физиологический раствор натрия хлорида в эквивалентном количестве с соблюдением тех же интервалов времени.

Период наблюдения составил 14 дней. На протяжении этого времени осуществляли клинический осмотр животных с целью оценки общего состояния в клетке содержания и на руках согласно плану-графику эксперимента. Взвешивание и эвтаназию животных проводили натошак. При этом доступ к воде не ограничивали. Эвтаназию осуществляли согласно графику эксперимента

путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза. Расчет суточного потребления животными корма и воды соответствовал нормативным данным.

Массу тела животных регистрировали до начала введения препаратов, далее ежедневно. Значения масс тела, полученные непосредственно перед эвтаназией, были использованы для расчета массовых коэффициентов (процентного отношения массы органов к массе тела). Процедуру осуществляли на электронных весах «Polaris» модель PKS 0512DG, производство USA; точность  $1,0 \pm 0,1$  гр. Класс точности 2.

Подробный осмотр животных, включающий оценку внешнего вида и симптомов интоксикации, проводили на 1, 2, 4, 7 и 14 сутки после введения препаратов согласно действующим рекомендациям [60,61]. Отмечали проявление и выраженность патологических признаков.

### ***Алгоритм осмотра животного:***

1. Осмотр в клетке содержания: аномальные позы и движения, самотравмирование, тремор, судороги.
2. Осмотр в руках: состояние шерстного покрова, цвет кожи и слизистых, аномалии дыхания, состояние глаз (слезотечение, реакция зрачка на свет, закрытие века, экзофтальм), саливация, обездвиживание конечностей.
3. Осмотр на открытой площадке: положение хвоста, походка, уринация/дефекация.
4. Тестирование рефлексов (неврологическое тестирование): реакция на резкий звук, координационный тест, рефлекс переворачивания, тест постановки лапы на опору, оценка мышечного тонуса. Тестирование рефлексов проводится с использованием лозных реакций, которые вызываются адекватными стимулами, воздействующими через соответствующие рецепторы на специфические сегментарные центры головного мозга. Иерархия исследуемых уровней включает оценку структур головного мозга:
  - продолговатый мозг (реакция вздрагивания на резкий звук). На громкий хлопок руками крыса реагирует замиранием, вытягиванием задних и сгибанием передних конечностей, глаза закрыты, уши прижаты назад [9];
  - варолиев мост и средний мозг (координационный тест, рефлекс переворачивания):
    - а) животное бросают вверх ногами с высоты 40 см на мягкую поверхность (вату или полиуретановую подстилку), оно переворачивается во время падения и приземляется на четыре лапы [15];
    - б) крысу кладут на спину; голова фиксируется рукой, переворачивание начинается с задних конечностей [9];

- кора головного мозга (реакция постановки лапы на опору): крысу держат на краю стола и сдвигают одну заднюю конечность так, чтобы она свешивалась с края стола, лапа немедленно будет подтянута на поверхность стола [9].

5. Оценка мышечного тонуса. Крыс подвешивают за передние лапы к металлической проволоке, натянутой горизонтально. В норме крыса в течение 5 секунд цепляется за проволоку всеми 4 лапами [15].

### ***Патоморфологическое исследование***

*Эвтаназия.* После исследования острой токсичности животные были подвергнуты плановой эвтаназии путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза.

Для оценки повреждающего действия препаратов на внутренние органы и ткани выполнялась их макроскопическая оценка, при которой детально исследовали внешнее состояние тела, грудную и брюшную полости с органами и тканями, шею с органами и тканями и скелетно-мышечную систему. У всех животных, подвергнутых эвтаназии, были извлечены и взвешены следующие внутренние органы: головной мозг, сердце, легкие, печень, селезенка, почки, надпочечники (только у крыс), поджелудочная железа, желудок. Для дополнительной оценки состояния органов рассчитывали массовые коэффициенты.

Статистическая обработка данных. Для всех количественных данных было вычислено групповое среднее арифметическое (M) и доверительный интервал с вероятностью 95% (m), данные представлены в итоговых таблицах. Статистический анализ проводился с использованием программы Statistica ver. 6.0. Достоверность отличий между группами данных оценивалась попарным сравнением средних с применением дисперсионного анализа ANOVA при нормальном распределении данных, либо с применением непараметрического критерия Крускала-Уоллиса и post-hoc апостериорного анализа, в зависимости от характера распределения величин параметров в группе. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$  [8,18].

#### Получены следующие результаты токсикометрии.

- Введение препарата Ренериум в дозе 10 мл/кг (0,016 мкг/кг) не вызывает гибели экспериментальных животных – белых беспородных крыс.
- Введение препарата Ренериум в дозе 18 мл/кг (0,03 мкг/кг) не вызывает гибели экспериментальных животных – белых беспородных мышей.
- Введение физиологического раствора в дозе 10 мл/кг для крыс и 18 мл/кг для мышей не вызывает гибели экспериментальных животных.

### ***Клиническая картина интоксикации***

Клинический осмотр проводился на 1, 2, 4, 7, 14 сутки после введения согласно указанному выше плану-графику исследования. В течение времени введения после двух введений у всей группы крыс, получавших препарат Ренериум, как у самцов, так и у самок не зафиксировано каких-либо отклонений в поведении и общем состоянии. Гибели животных также не отмечено.

По результатам последующих осмотров в течение всего времени наблюдения не отмечено изменений в поведении и общем состоянии животных:

- Осмотр в клетке: внешний вид и активность соответствовали норме; тремора, аномальных движений, судорог и самотравмирования не отмечено. Уринация и дефекация в норме.
- Осмотр на руках показал отсутствие аномалий дыхательных движений, изменения цвета слизистых оболочек. Шерсть у всех животных чистая, гладкая, без следов облысения, видимые кожные покровы – без изменений. Глазная щель и реакция на свет в норме у всех животных.
- Осмотр на открытой площадке позволил установить отсутствие тремора, судорог, аномальных поз. Походка без особенностей, исследовательская активность соответствует фоновым показателям.

Тестирование рефлексов показало сохранение реакции на резкий звук, способности сохранять неудобное положение «на боку» и «на спине» не отмечено. Рефлекс постановки лапы на опору сохранен у всех животных.

У всех животных сохранён тонус скелетных мышц (время удерживания на горизонтальной натянутой проволоке соответствует фоновым показателям).

В контрольной группе животных (как крыс, так и мышей), получавших ингаляции физиологического раствора хлорида натрия, никаких отклонений в поведении, внешнем виде и рефлексах не отмечено.

Не отмечено каких-либо изменений в потреблении корма и воды животными (крысы, мыши) как в экспериментальных, так и в контрольных группах. Количество потреблённой пищи и воды соответствовало фоновым показателям в течение всего срока наблюдения.

В течение 14 дней наблюдения отмечался небольшой прирост массы тела по сравнению с фоновыми показателями, как в экспериментальных группах животных, так и в контрольных.

### ***Данные вскрытия и макроскопического анализа***

Шерсть опытных животных нормальной густоты, без очагов облысения. Питание животных удовлетворительное. При осмотре грудной и брюшной полостей нарушения расположения органов не отмечается.

При вскрытии крыс и мышей в конце эксперимента (через 14 дней от начала опыта) видимых морфологических изменений внутренних органов при макроскопическом анализе ни в одной из экспериментальных групп не установлено. Внешний вид всех органов, их взаиморасположение, характеристики срезов и внутренних поверхностей (для полых органов) в группах экспериментальных животных не отличались от контрольной группы животных.

- Щитовидная железа расположена на шее ниже надгортанника, плотно прилежит к гортани, имеет две доли в перешеек, умеренно плотную консистенцию, розовато-красноватый цвет.
- Тимус треугольной формы, беловатого цвета, умеренно плотной консистенции. Размеры и конфигурация сердца обычные. Миокард на разрезе коричневатого цвета, плотный.
- Поверхность легких розового цвета, гладкая, на разрезе ткань ровного цвета, без видимых вкраплений и участков с изменённой плотностью.
- Селезенка темно-вишневого цвета, поверхность ее гладкая, консистенция плотная. При разрезе органа выпячивания ткани за края капсулы не отмечается.
- Желудок правильной формы, складчатый край между безжелезным (пищеводным) и железистым (фундальным) отделами выраженный, складки пищеводного и фундального отдела сохранены. Слизистая тела желудка розовая, без видимых участков повреждений и гиперемии. Слизистая тонкой и толстой кишок блестящая, гладкая, без патологических изменений. Поджелудочная железа нормального цвета без видимых уплотнений и гиперемии.
- Печень животных правильных размеров, края чёткие, острые, цвет ровный тёмнокоричневый, без пестроты. Капсула печени тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезе коричневого цвета, ровной структуры, за края капсулы не выпирает.
- Почки бобовидной формы, капсула легко снимается. Поверхность органа гладкая, однородной коричневато-серооливковой окраски. На сагиттальном разрезе отчетливо визуализируются корковое и мозговое вещество почек.
- Форма, размеры и плотность надпочечников, яичников и яичек не отличаются от органов животных контрольной группы.
- Оболочки головного мозга тонкие, прозрачные. Вещество головного мозга на разрезе умеренной плотности. Визуально желудочки мозга не расширены.

Во всех экспериментальных группах внешний вид внутренних органов при проведении макроскопического исследования признан соответствующим норме, патологий и отклонений не обнаружено.

После эвтаназии путем помещения животного в затравочную камеру, содержащую пары наркотического средства (этиловый эфир), у животных извлекали внутренние органы и определяли их массовый коэффициент (МК) по формуле:

$$\text{МК} = \text{масса органа (в граммах)} \times 100 \times 10 / \text{масса тела (в граммах)} [58].$$

Результаты оценки МК внутренних органов основной и контрольной группы экспериментальных животных показал отсутствие острого токсического влияния ингаляционного введения препарата Ренериум.

#### **Заключение по результатам исследования острой токсичности нового ингаляционного препарата Ренериум**

- При исследовании острой токсичности препарата Ренериум при ингаляционном пути введения белым беспородным крысам и мышам установлено следующее:
- Введение препарата Ренериум в дозе 0,016 мкг/кг (20 ЛД) белым нелинейным крысам не вызывает гибели животных.
- Введение препарата Ренериум в дозе 0,03 мкг/кг (20 ЛД) белым нелинейным мышам не вызывает гибели животных.
- При остром введении препарат Ренериум не вызывает нарушения поведения и состояния основных физиологических систем у белых нелинейных крыс и мышей. Введение 20-ти кратной терапевтической дозы не влияет на потребление корма и воды белых нелинейных крыс и мышей и не изменяет динамики набора массы тела. Ингаляционное введение 20-ти кратной терапевтической препарата Ренериум белым нелинейным крысам и мышам не изменяет состояния их внутренних органов по результатам макроскопического анализа, а также не влияет на массовые коэффициенты внутренних органов животных, что может свидетельствовать об отсутствии токсического эффекта препарата.

По результатам проведённого исследования новый ингаляционный препарат Ренериум не проявил токсичности при остром ингаляционном введении экспериментальным животным (белым нелинейным крысам и мышам) в 20-ти кратной терапевтической дозе.

# **Сравнительное исследование эффективности препарата Ренериум в эксперименте с участием лабораторных животных**

## **Оценка эффективности ингаляционного препарата на модели острого бронхита у крыс, вызванного ингаляцией 1% раствора формалина**

### **План исследования**

Формирование модели острого бронхита выполняли по методике, описанной Кательниковой А.Е. и соавт. [35] путем однократной ингаляции 2 мл 1% раствора формалина на 1 животное в течение 15 минут.

В рамках сравнительного исследования путем рандомизации сформировано 4 группы животных по 6 особей в каждой (3 самца и 3 самки, всего 24 животных).

1. Опытная группа 1: получала ингаляции 1% раствора формалина с целью формирования модели острого бронхита, затем ингаляции опытного препарата Ренериум (доза церия 0,00025 мкг/кг) в течение 7 дней 1 раз в сутки, начиная со второго дня эксперимента (эвтаназия на 9 день эксперимента);
2. Опытная группа 2: получала ингаляции 1% раствора формалина с целью формирования модели острого бронхита, затем ингаляции опытного препарата Ренериум (доза церия 0,003 мкг/кг) в течение 5 дней 1 раз в сутки (эвтаназия на 6 день эксперимента);
3. Контрольная группа получала ингаляции физиологического раствора хлорида натрия в течение 7 дней, эвтаназия выполнена на 9 день эксперимента;
4. Группа «чистого контроля» получала ингаляции 1% раствора формалина с целью формирования модели острого бронхита, затем находилась под наблюдением до момента эвтаназии. Эвтаназия выполнена на 9 день эксперимента.

Дизайн исследования содержал 5 этапов:

1. Отбор животных, исходное наблюдение.
2. Формирование модели острого бронхита путем ингаляции 1% раствора формалина (кроме животных группы 3).
3. Рандомизация животных на опытные и контрольные группы (группы животных 1, 2 и 4).
4. Лечебные ингаляционные введения препарата Ренериум (опытная группа 1, доза церия 0,00025 мкг/кг), Ренериум (опытная группа 2, доза церия 0,003 мкг/кг) или физиологического раствора хлорида натрия (группа 3). Группа «чистого контроля» (группа 4) не получала лечебных ингаляций, после формирования модели острого бронхита продолжала наблюдение до 6 суток.
5. Эвтаназия животных с последующим исследованием органов дыхания путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза.

План-график исследования для животных группы 1 представлен в табл. 1. Аналогичные планы были составлены для других групп с коррекцией периода наблюдения.

Таблица 1. План-график исследования животных группы 1

Манипуляции	Дни исследования
Взвешивание	Фоновое (до введения), 2, 7 сутки после введения
Оценка потребления корма и воды	Ежедневно
Введение формалина	Однократно в первый день эксперимента
Введение лечебного препарата	Ежедневно, начиная со 2 суток исследования
Клиническое наблюдение	Ежедневно с 1-го по 8-й день
Эвтаназия животных, забор органов	На 9 сутки

### Способ введения и выбор доз

В качестве биологической тест-системы в эксперименте были использованы белые инбредные крысы, самцы и самки. Ингаляционно испытуемый препарат Ренериум, формалин и физиологический раствор вводили животным с использованием компрессионного ингалятора В. Well pro-110 и герметичной стеклянной камеры (затравочной камеры), так как этот способ введения является аналогом планируемого ингаляционного способа применения препарата в клинической практике.

### Расчёт доз препаратов

Терапевтическая доза препарата Ренериум для крысы (группа 1) рассчитана в пропорции с учетом разницы веса человека и крысы. Доза препарата Ренериум (группа 2) рассчитана с учетом различий дыхательных объемов крысы и человека. Терапевтическая доза Ренериум для человека

составляет 0,025 мкг в сутки (ТД) в пересчёте на содержание в препарате церия. Расчёт доз выполнен с использованием коэффициентов пересчёта [60]. Для человека весом 70 кг коэффициент пересчёта концентрации препарата равен 39. Для крысы со средней массой тела 300 гр. коэффициент пересчёта равен 5,9. При массе животного 280 гр. доза препарата Ренериум для животных группы 1 составляла 0,00025 мкг/кг, препарат вводили ингаляционно в 3 мл раствора NaCl 0,9%. Группа 2 получала ингаляции препарата Ренериум из расчёта 0,003 мкг/кг в 5 мл раствора для трех животных, помещенных в затравочную камеру.

Клиническое наблюдение за животными осуществляли с целью оценки общего состояния в клетке, поведения на руках согласно плану-графику эксперимента. Взвешивание и эвтаназию животных проводили натошак. При этом доступ к воде не ограничивали.

Массу тела животных регистрировали до начала введения препаратов, на 2-й и 7-й день эксперимента (группа 1) или на 1-й и 6-й день (группа 2). Значения масс тела, полученные непосредственно перед эвтаназией, были использованы для расчета массовых коэффициентов лёгких (процентного отношения массы органов к массе тела). Процедуру осуществляли на электронных весах «Polaris» модель PKS 0512DG, производство USA; точность  $1,0 \pm 0,1$  гр. Класс точности 2.

Оценка суточного потребления животными корма и воды была проведена на клетку содержания с расчетом среднего значения нормы потребления на одно животное в соответствии с нормативными данными [20,62].

Подробный осмотр животных, включающий оценку внешнего вида и симптомов интоксикации, проводили ежедневно. Отмечали проявление и выраженность патологических признаков. Алгоритм осмотра животного:

- Осмотр в клетке содержания: аномальные позы и движения, самотравмирование, тремор, судороги;
- Осмотр в руках: состояние шерстного покрова, цвет кожи и слизистых, аномалии дыхания, состояние глаз (слезотечение, реакция зрачка на свет, закрытие века, экзофтальм), саливация, обездвиживание конечностей;
- Осмотр на открытой площадке: положение хвоста, походка, уринация/дефекация.

### **Патоморфологическое исследование**

После исследования животные были подвергнуты плановой эвтаназии путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза. Для оценки эффективности препарата проводили макроскопический осмотр состояния лёгких и грудной полости с последующим извле-

чением лёгких и забором их на гистологическое исследование. Для дополнительной оценки состояния лёгких рассчитывали массовые коэффициенты по формуле:

$$\text{МК} = \text{масса органа (в граммах)} \times 100 \times 10 / \text{масса тела (в граммах)} [58].$$

### **Статистическая обработка данных**

Для всех количественных данных было вычислено групповое среднее арифметическое (M) и доверительный интервал с вероятностью 95%. Статистический анализ проводился с использованием программы Statistica ver. 6.0. Достоверность отличий между группами данных оценивалась попарным сравнением средних с применением t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$  [8,18].

### **Результаты доклинического исследования эффективности препарата Ренериум в эксперименте (Модель острого бронхита)**

#### Клиническая картина интоксикации

Клинический осмотр проводился ежедневно согласно указанному выше плану-графику исследования. Ингаляционное введение раствора формалина сопровождалось невыраженными симптомами раздражения конъюнктивальных оболочек: гиперемия конъюнктивы глаз; другие симптомы раздражения слизистых отсутствовали. Слизистая оболочка ротовой полости в норме, розового цвета, без следов кровоизлияний и расширения капилляров. Поведение животных в период ингаляционного воздействия характеризовалось ограничением двигательной активности, стремлением прижаться друг к другу. После ингаляции раствора формалина в поведении животных отклонений не отмечено. Каких-либо изменений в потреблении корма и воды не выявлено.

Терапевтические ингаляции выполнялись в течение 7 дней (группа 1) или 5 дней (группа 2), переносились хорошо.

По результатам последующих осмотров в течение всего времени наблюдения не отмечено изменений в поведении и общем состоянии животных:

- Осмотр в клетке: внешний вид и активность соответствовали норме; тремора, аномальных движений, судорог и самотравмирования не отмечено. Уринация и дефекация в норме.
- Осмотр на руках показал отсутствие аномалий дыхательных движений, изменения цвета слизистых оболочек. Шерсть у всех животных чистая, гладкая, без следов облысения, видимые кожные покровы – без изменений. Глазная щель и реакция на свет в норме у всех животных. Видимые слизистые оболочки глаз, носа и ротовой полости гиперемированы.

- Осмотр на открытой площадке позволил установить отсутствие тремора, судорог, аномальных поз. Походка без особенностей, исследовательская активность соответствует фоновым показателям.

Не отмечено каких-либо изменений в потреблении корма и воды животными (крысы, мыши) как в экспериментальных, так и в контрольных группах. Количество потреблённой пищи и воды соответствовало фоновым показателям в течение всего срока наблюдения.

В течение 5 дней (группа 2) и 7 дней наблюдения (группы 1, 3, 4) отмечался небольшой прирост массы тела по сравнению с фоновыми показателями, как в экспериментальных группах животных, так и в контрольных.

При вскрытии крыс в конце эксперимента видимых морфологических изменений внутренних органов при макроскопическом анализе ни в одной из экспериментальных групп не установлено. Внешний вид всех органов, их взаиморасположение, характеристики срезов и внутренних поверхностей (для полых органов) в группах экспериментальных животных не отличались от контрольной группы животных.

Шерсть опытных животных нормальной густоты, без очагов облысения. Питание животных удовлетворительное. При осмотре грудной и брюшной полостей нарушения расположения органов не отмечается.

Размеры и конфигурация сердца обычные. Миокард на разрезе коричневатого цвета, плотный.

Поверхность легких розового цвета, гладкая, на разрезе ткань ровного цвета, без видимых вкраплений и участков с изменённой плотностью.

Образцы лёгких животных всех групп помещены в фиксирующую жидкость и переданы для изготовления гистологических препаратов.

Массовые коэффициенты лёгких составили:

- Группа «Ренериум (группа 1)» –  $6,55 \pm 1,53$  гр.;
- группа «Ренериум (группа 2)» –  $5,47 \pm 0,92$  гр.;
- группа «Хлорид натрия» (группа 3) –  $6,67 \pm 1,88$  гр.;
- группа «Формалин» (группа 4) –  $5,21 \pm 0,97$  гр.

Различия в массовых коэффициентах лёгких между опытными группами и группой животных, получавшей ингаляции формалина, а также между контрольной группой, получавшей ингаляции 0,9% раствора NaCl и группой, получавшей ингаляции раствора формалина («чистым контролем») были недостоверными.

### Результаты гистологического исследования

В группе «чистого контроля» (группа 4), получавшей ингаляции только 1% раствора формалина, гистологическое исследование органов дыхания установило признаки токсического действия формалина с развитием бронхита в виде нарушения кровообращения, выраженного поражения эпителия и гиперплазии лимфоидной ткани в стенке бронхов (рис. 1, 4).

Сосуды легких неравномерно расширены и полнокровны. Вокруг некоторых полнокровных сосудов имеются участки геморрагий. Наблюдается периваскулярный отек и массивная диффузная инфильтрация лимфоцитами.

В респираторном отделе (рис. 7) участки частичного спадения альвеол чередуются с участками их эмфизематозного расширения. Просвет альвеол свободен. Межалвеолярные перегородки обычного строения. В некоторых альвеолах наблюдается пролиферация альвеолоцитов 2 типа.

Просвет большей части бронхов расширен. Эпителий бронхов выглядит набухшим (рис. 4). Наблюдается увеличение количества бокаловидных клеток в составе эпителия и усиление слизеобразования за счет повышения их функциональной активности. В просвете бронхов определяется слизь с десквамированным эпителием. В слизистой оболочке бронхов среднего калибра отмечается расширение и полнокровие кровеносных сосудов. В этих бронхах встречаются участки десквамации групп эпителиальных клеток и целого эпителиального пласта. В просвете располагаются крупные конгломераты, состоящие из десквамированного эпителия и слизи, создающие картину обструкции бронха. В терминальных бронхиолах наблюдается увеличение высоты эпителиальных клеток и усиление их секреции. В стенке бронхов среднего и мелкого калибра определяется массивная диффузная лимфоидная инфильтрация, лимфоциты часто формируют крупные фолликулы. Лимфоциты располагаются в слизистой и подслизистой оболочках, инфильтрируют эпителий. Мышечная пластинка бронхов неравномерно утолщена. Плевра имеет обычное строение.

В легких животных контрольной группы (группа 3), получавших ингаляции физиологического 0,9% раствора NaCl, наблюдается полнокровие сосудов. Стенка некоторых артерий склерозирована. Периваскулярно определяются умеренной или слабой интенсивности диффузные лимфоидные инфильтраты (рис. 3). Внутрилегочные бронхи представлены бронхами среднего, мелкого калибра и терминальными бронхиолами. Просвет бронхов имеет овальную или звездчатую форму. Эпителий бронхов однослойный многорядный столбчатый, единичные клетки слущиваются в просвет (рис. 6). В просвете некоторых бронхов имеется небольшое количество слизи. Собственная пластинка слизистой оболочки представлена соединительной тканью, мышечная пластинка состоит из гладкомышечной ткани. Слизистая оболочка бронхов содержит небольшое количество диффузно расположенных лимфоцитов. В стенке некоторых бронхов содержатся единичные лимфоидные фолликулы.

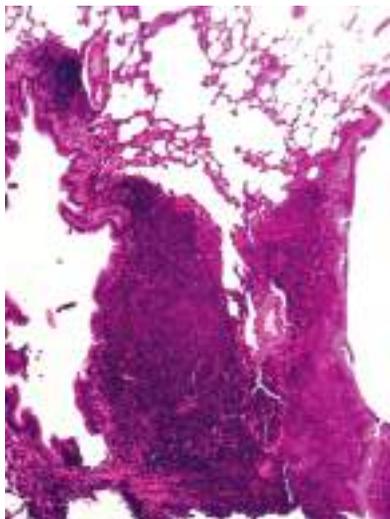


Рис. 1. Структура стенки среднего калибра бронха после ингаляции 1% раствора формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

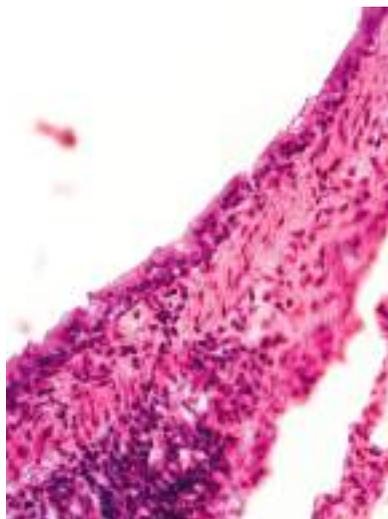


Рис. 2. Структура стенки среднего калибра бронха после ингаляции Препарата Ренериум в дозе 0,003 мкг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

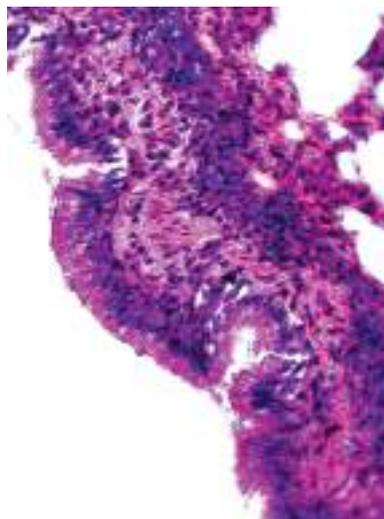


Рис. 3. Структура стенки среднего калибра бронха после ингаляции 0,9% раствора NaCl. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз



Рис. 4. Структура стенки мелкого бронха после ингаляции 1% раствора формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

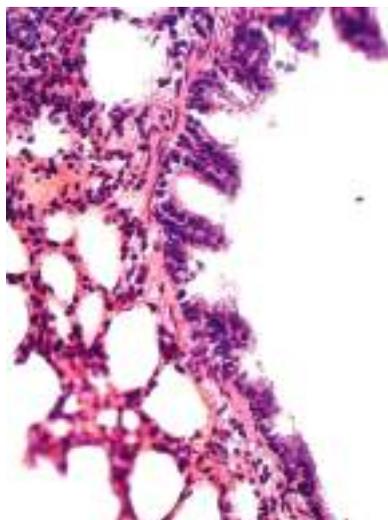


Рис. 5. Структура стенки мелкого бронха после ингаляции Препарата Ренериум в дозе 0,003 мкг/кг. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

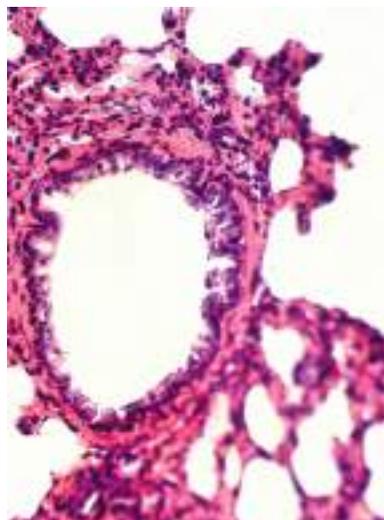


Рис. 6. Структура стенки мелкого бронха после ингаляции 0,9% раствора NaCl. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

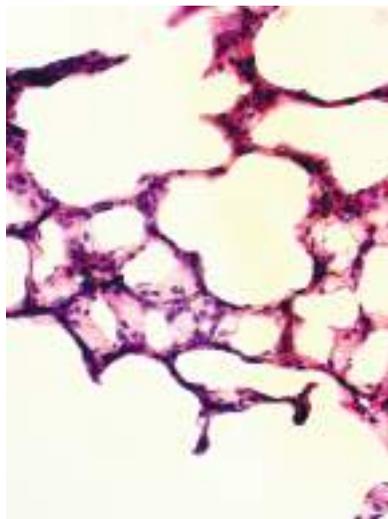


Рис. 7. Структура стенки респираторного отдела легкого после ингаляции 1% раствора формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

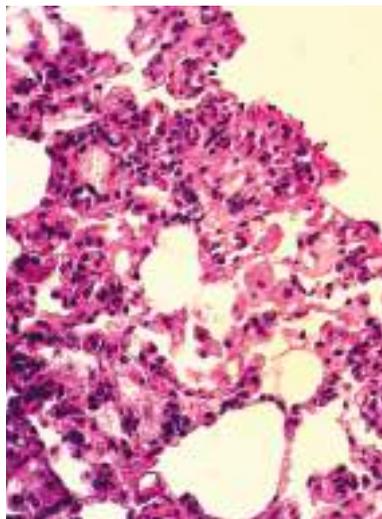


Рис. 8. Структура стенки респираторного отдела легкого после ингаляции Препарата Ренериум. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

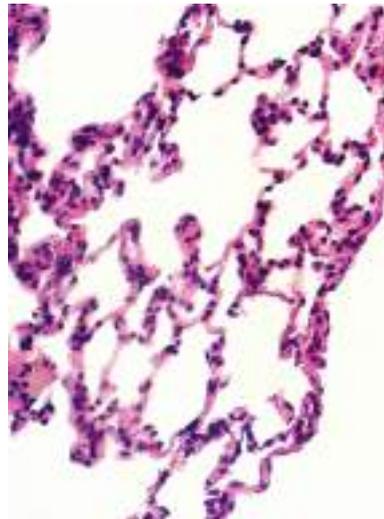


Рис. 9. Структура респираторного отдела легкого после ингаляции 0,9% раствора NaCl. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x 400 раз

Легочная паренхима представлена ацинусами, состоящими из респираторных бронхиол, выстланных кубическим эпителием, альвеолярных ходов и мешочков. Просвет альвеол свободен. Имеются участки расширения просвета альвеол. Межалвеолярные перегородки не утолщены. Плевра состоит из тонкой пластинки соединительной ткани и мезотелия (рис. 9).

В группе крыс, получавшей ингаляции препарата Ренериум (группа 2) с увеличением дозы препарата по отношению к «расчетной терапевтической» в 12 раз, выявлены гистологические признаки уменьшения токсического действия формалина в виде снижения интенсивности лимфоидной инфильтрации оболочек бронхов и периваскулярной соединительной ткани, отсутствия процессов десквамации эпителиальных пластов в слизистой оболочке и восстановления эпителия в большей части бронхов (рис. 2). Сохраняются признаки повышенной активности бокаловидных клеток, но она снижена по сравнению с действием формалина. Сосуды легких неравномерно расширены и полнокровны. Вокруг сосудов имеется очаговая инфильтрация лимфоцитами, уменьшенная по сравнению с изменениями под действием формалина в группе «чистого контроля».

Участки частичного спадения альвеол чередуются с участками их расширения. Просвет альвеол свободен. Межалвеолярные перегородки обычного строения. В стенке некоторых альвеол определяется пролиферация альвеолоцитов 2 типа. В просвете единичных альвеол определяются макрофаги.

Просвет большей части бронхов не расширен. Стенка бронхов среднего калибра характеризуется снижением интенсивности лимфоидной инфильтрации от слабой до умеренной, нет массивной инфильтрации, как при действии формалина (рис. 5). Лимфоидная инфильтрация в этих бронхах, в отличие от действия формалина, наблюдается в подслизистой, в то же время слизистая оболочка свободна от лимфоцитов, мышечная пластинка неравномерно утолщена. В слизистой оболочке бронхов мелкого калибра и терминальных бронхиолах лимфоциты либо отсутствуют, либо формируют небольшие очаговые скопления. У части животных (образцы тканей P12, P13) лимфоидная инфильтрация отсутствует как вокруг сосудов, так и в стенке бронхов. Эпителий бронхов характеризуется признаками восстановления. В просвете единичных бронхов сохраняется небольшое количество слизи с десквамированным эпителием, конгломераты крупного размера отсутствуют. В части бронхов сохраняется повышенное слизееобразование. Отсутствуют признаки десквамации пластов эпителия. В терминальных бронхиолах сохраняются признаки увеличения функциональной активности эпителия. Плевра имеет обычное строение.

В гистологических препаратах легких животных группы 1, получавших препарат Ренериум в низкой дозе, сохраняется венозное полнокровие. Наблюдается периваскулярный отек и диффузная инфильтрация лимфоцитами с примесью эозинофилов.

В легочной паренхиме наряду с обычными определяются участки эмфизематозного расширения просвета альвеол и дистелектазы. Межальвеолярные перегородки не утолщены (рис. 8). В 2-х их 3-х препаратах наблюдается стаз крови в сосудах микроциркуляторного русла, в утолщенных межальвеолярных перегородках содержатся ярко окрашенные эритроциты, а в просвете альвеол находится отечная жидкость.

В стенке бронхов наблюдается выраженная пролиферация эпителия с образованием сосочков. Увеличивается количество слизистых клеток. В просвете имеется десквамированный эпителий и слизь. Стенка бронхов утолщена в результате отека и диффузно инфильтрирована лимфоцитами со значительной примесью эозинофилов. Наблюдается частичная отслойка слизистой оболочки части бронхов. Мышечная пластинка неравномерно утолщена. Часть терминальных бронхиол имеет строение, соответствующее контролю. В стенке бронхов располагаются крупные лимфоидные фолликулы. В единичном препарате в просвете среднего бронха содержится значительное количество лейкоцитов, а стенка этого бронха плотно инфильтрирована лимфоцитами. В легочной ткани другого животного выявляются гемосидерофаги вокруг кровеносных сосудов. Плевра имеет обычное строение.

**Заключение** оценки гистологической картины образцов легочной ткани животных, получавших препарат Ренериум в низкой дозе: гистологические признаки острого катарального бронхита на фоне сенсibilизации. Более задействованы бронхи среднего калибра. В легочной ткани 2-х из 3-х животных выявлена застойная гиперемия и альвеолярный отек. В одном из этих случаев имеются признаки гнойного бронхита.

Результаты гистологического исследования подтвердили противовоспалительную и регенераторную эффективность препаратов Ренериум в дозе 0,003 мкг/кг. Применение нового препарата сопровождалось признаками нормализации слизистой оболочки дыхательных путей, восстановлением структуры реснитчатого эпителия, значительным ограничением воспалительной инфильтрации клеточными элементами, повреждений базальной мембраны. Сравнительные данные в группах животных представлены в рис. 1-9. Показано сравнение состояния респираторного отдела легочной ткани, терминальных бронхиол, бронхов мелкого и среднего калибра. Отчетливо прослеживается уменьшение реакции интерстициальной ткани легкого, восстановление структуры подслизистого слоя, базальной мембраны и реснитчатого эпителия под влиянием препарата Ренериум. Установлено, что в исследованном диапазоне эффект имел дозозависимый характер, что, с учетом отсутствия токсичности препарата в 200-кратном диапазоне, позволяет в дальнейшем рекомендовать большие дозировки ионных форм церия, марганца, цинка и серебра для клинических целей.

### **Оценка эффективности препарата Ренериум на модели плоскостной кожной раны у крыс**

Плоскостная кожная рана применяется для изучения ранозаживляющей и регенераторной активности фармакологических веществ и предполагает вырезание кожного лоскута заданной площади [25].

Формирование модели плоской кожной раны крысы. В области лопаток примерно в 1 см от основания черепа полностью выстригали шерсть, маркером отмечали площадь в 1 см<sup>2</sup> и острыми хирургическими ножницами вырезали кожный лоскут с сохранением подкожной жировой клетчатки и подлежащих мышечных слоёв. Сразу после нанесения раны во всех группах животных обрабатывали 0,05% раствором Хлоргексидина для уменьшения риска бактериальной контаминации раны.

В качестве биологической тест-системы в эксперименте были использованы белые крысы, самцы и самки. В рамках сравнительного исследования сформировано 3 группы животных по 6 особей в каждой (3 самца и 3 самки, всего 18 животных).

1. Опытная, белые крысы (3 самца и 3 самки), получавшие аппликации марлевой повязки, смоченной раствором препарата Ренериум (1 мл препарата на одну повязку), фиксированной лейкопластырем на 20 минут 1 раз в день на протяжении 5 дней, включая день формирования модели плоскостной кожной раны.

2. Контрольная 1, белые крысы (3 самца и 3 самки), получавшие аппликации марлевой повязки, смоченной 0,9% раствором хлорида натрия (1 мл препарата на одну повязку), фиксированной лейкопластырем на 20 минут 1 раз в день на протяжении 5 дней, включая день формирования модели плоскостной кожной раны.

3. Контрольная 2, белые крысы (3 самца и 3 самки), не получавшие лечение после формирования модели плоскостной кожной раны.

Испытуемый препарат Ренериум для исследования эффективности лечения кожных ран отличался увеличением концентрации ионов церия до 1 мкг/л.

### План исследования

Продолжительность исследования составила 6 дней. В первый день всем животным формировали модель плоскостной кожной раны, обрабатывали раствором Хлоргексидина, затем животным опытной и 1-й контрольной группы выполняли аппликации (препарат Ренериум в опытной группе и 0,9% раствор хлорида натрия – в контрольной). Измерение размеров раны, оценку состояния животных выполняли ежедневно, согласно регламенту стандартных операционных процедур. Эвтаназия всех животных осуществлялась на 6-й день эксперимента путем их помещения в камеру, содержащую пары этилового эфира для наркоза. Кожные лоскуты с подкожной клетчаткой исследовались гистологически с окраской препаратов гематоксилин-эозином.

Оценка динамики заживления раны и площади раневой поверхности. Данные о динамике площади раневой поверхности представлены в табл. 2, 3. и на рис. 10.

Таблица 2. Динамика изменения площади раневой поверхности в мм<sup>2</sup>, M±m

	2-е сутки	3-е сутки	4-е сутки	5-е сутки	6-е сутки
Ренериум	149,6±21,13	110,6±12,08	99,4±4,41*	84,6±13,7*	76,0±13,76
Контроль (группа 1)	148,2±20,91	116,2±14,89	114,1±14,85	102,6±11,55	85,9±11,37
Контроль (группа 2)	133,4±17,46	118,4±14,92	117,4±15,72	105,0±10,86	87,6±9,41

Таблица 3. Динамика изменения площади раневой поверхности в % по отношению к исходной площади раны

	2-е сутки	3-е сутки	4-е сутки	5-е сутки	6-е сутки
Ренериум	100	74,3	67,5	57,3	50,9
Контроль (группа 1)	100	78,4	77,0	69,2	58,0±
Контроль (группа 2)	100	88,9	88,0	79,4	66,4



Рис. 10. Динамика кожной раны в опытной и контрольной группе, не получавшей лечение.

Согласно результатам, представленным в табл. 2, 3 и рис. 10, и на основании оценки клинической картины (локального статуса) местное применение препарата Ренериум сопровождалось заметным ускорением заживления плоской кожной раны по сравнению с показателями контрольной группы. В течение всего периода наблюдений раны у животных опытной группы оставались чистыми, без признаков присоединения бактериальной инфекции, гноя, кровотечений, отсло-

ний струпа и плазмореи. В группе контроля №2 (без аппликаций 0,9% раствора хлорида натрия) у 1 животного наблюдалось образование струпа, его отслоение к 6-м дню наблюдения и плазморея, еще у 2-х отмечено длительное формирование кровянистых корочек, плазмореи.

### **Оценка клинической картины интоксикации**

Клинический осмотр проводился ежедневно согласно плану-графику исследования. В течение времени наблюдения у всех групп крыс не зафиксировано каких-либо отклонений в поведении и общем состоянии. Гибели животных также не отмечено.

По результатам последующих осмотров в течение всего времени наблюдения не отмечено изменений в поведении и общем состоянии животных:

- Осмотр в клетке: внешний вид и активность соответствовали норме; тремора, аномальных движений, судорог и самотравмирования не отмечено. Уринация и дефекация в норме.
- Осмотр на руках показал отсутствие аномалий дыхательных движений, изменения цвета слизистых оболочек. Шерсть у всех животных чистая, гладкая, без следов облысения, видимые кожные покровы – без изменений. Глазная щель и реакция на свет в норме у всех животных.
- Осмотр на открытой площадке позволил установить отсутствие тремора, судорог, аномальных поз. Походка без особенностей, исследовательская активность соответствует фоновым показателям.

В течение эксперимента с нанесением кожной плоской раны не отмечено каких-либо изменений в потреблении корма и воды животными (крысы, мыши) как в экспериментальных, так и в контрольных группах. Количество потреблённой пищи и воды соответствовало фоновым показателям в течение всего срока наблюдения.

### **Данные вскрытия животных и макроскопического анализа**

При вскрытии крыс в конце эксперимента (на 6-й день от начала опыта) в опытной группе видимых морфологических признаков воспаления не обнаружено. Наблюдалась эпителизация дна раны. В контрольной группе, не получавшей лечения отмечались видимые признаки активного воспаления (воспалительный валик инфильтрации), геморрагические корочки, неполная эпителизация раны. В контрольной группе, получавших аппликации с 0,9% раствором хлорида натрия, видимые признаки воспаления отсутствовали, неполная эпителизация раны выявлена только у 2-х животных с геморрагическими корочками. Образцы кожных лоскутов животных всех групп помещены в фиксирующую жидкость и переданы для изготовления гистологических препаратов.

## Результаты гистологического исследования кожного лоскута в контрольной группе животных

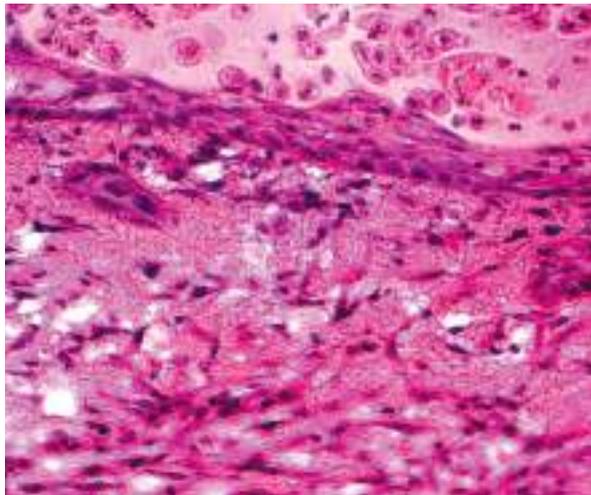


Рис. 11. Контроль. К1. Струп и жидкость на поверхности грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

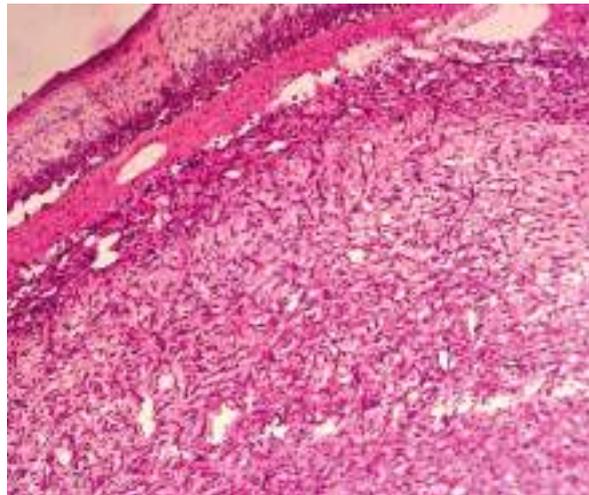


Рис. 12. Контроль. К1. Грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

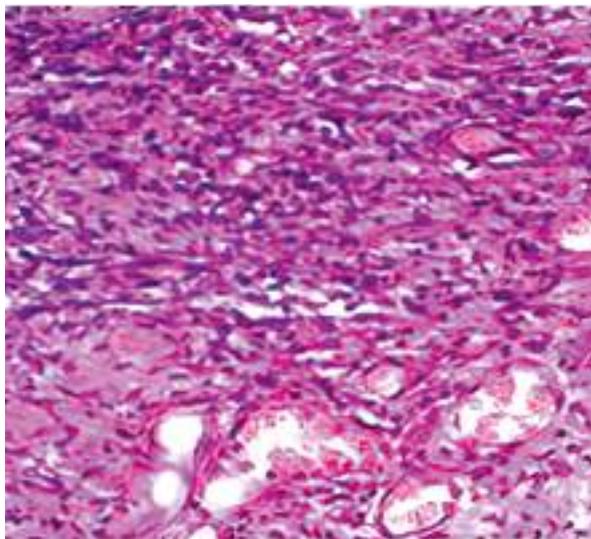


Рис. 13. Контроль. К5. Грануляционная ткань. Слой тонкостенных сосудов. Эпителизация на поверхности регенерата. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

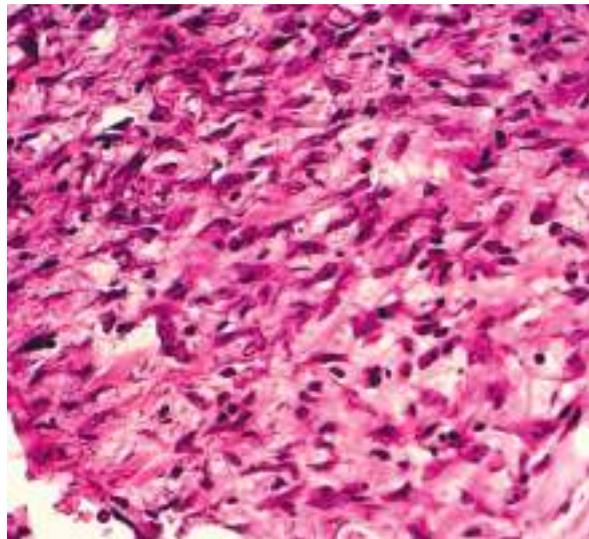


Рис. 14. Контроль. К4. Грануляционная ткань. Слой вертикально расположенных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

На поверхности раны у животных контрольной группы располагается струп, состоящий из некротизированной ткани, пропитанной кровью, нитями фибрина и полиморфноядерными лейкоцитами. Под струпом определяется жидкость, содержащая эритроциты и полиморфноядерные лейкоциты, многие из которых находятся в состоянии распада (рис. 11).

Под слоем жидкости находится грануляционная ткань. Она имеет несколько слоев. В верхней части грануляционная ткань представлена плотно расположенными полнокровными мелкими тонкостенными сосудами (рис. 12). Мелкие сосуды, в основном, имеют параллельное поверхности раны направление и характеризуются диапедезом эритроцитов.

Ниже лежат кровеносные сосуды большего диаметра с неравномерным кровенаполнением, их эндотелий приобретает крупные размеры (рис. 13, 14). В просвете части из них видно краевое стояние лейкоцитов. Сосуды располагаются в разном направлении, но преимущественно, лежат перпендикулярно к поверхности раны. Между сосудами определяются фибробласты и единичные макрофаги. Между клетками и сосудами выявляется сеть тонких коллагеновых волокон.

Под сосудистым слоем находится клеточный слой, состоящий из плотно расположенных фибробластов и макрофагов (рис. 15). Фибробласты имеют крупные размеры, содержат ядра овальной или вытянутой формы. Клетки располагаются в разном направлении, но, преимущественно, лежат горизонтально. Толщина коллагеновых волокон в этом слое увеличивается. Постепенно

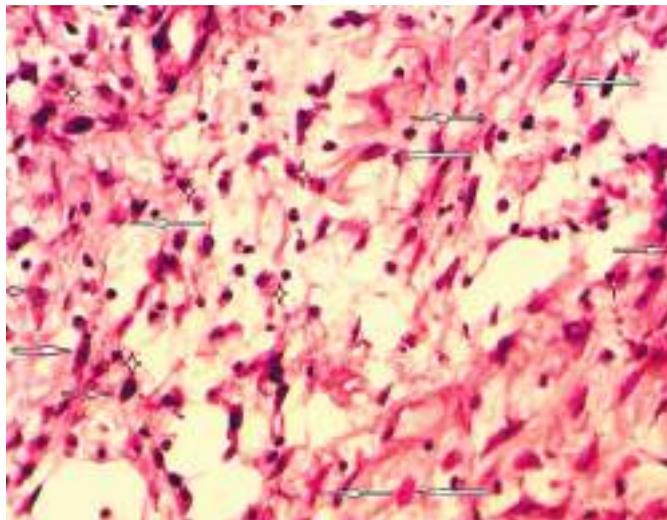


Рис. 15. Контроль. К2. Грануляционная ткань. Фибробласты (стрелки) и макрофаги (звездочки). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

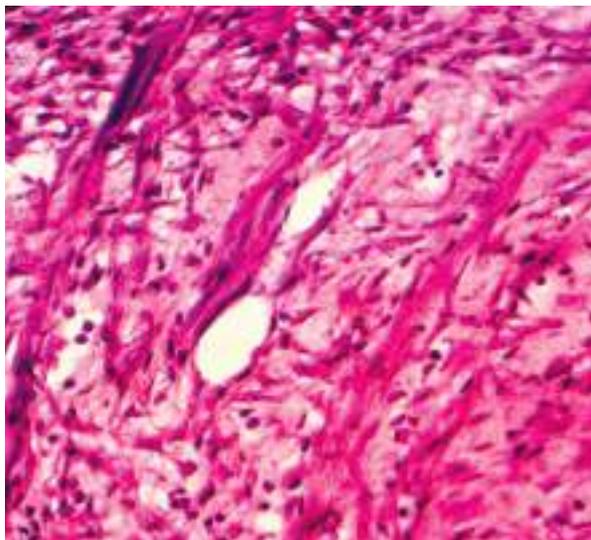


Рис. 16. Контроль. К1. Грануляционная ткань. Формирование мышечных волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

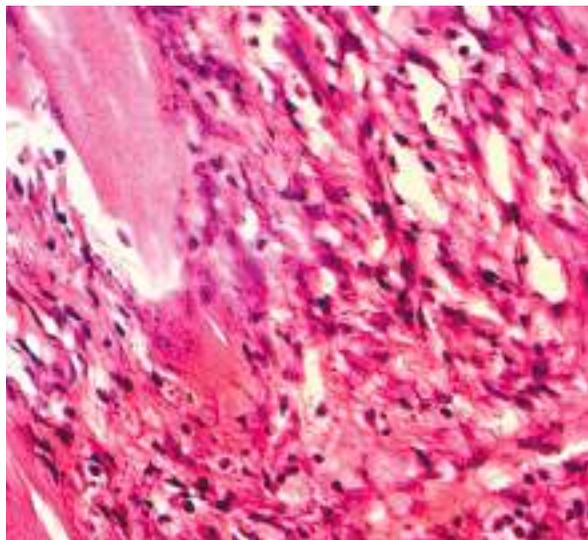


Рис. 17. Контроль. К3. Мышечный симпласт в периферических участках грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

растет количество межклеточного вещества, клетки приобретают более рыхлое расположение. В стенке кровеносных сосудов этой зоны наблюдается развитие оболочек, вокруг увеличено число макрофагов, определяются фибробласты и тучные клетки.

Ниже расположена более зрелая соединительная ткань, содержащая адипоциты, кровеносные сосуды обычного строения. В этой зоне единичные клетки имеют фенотип миофибробластов (рис. 16). Все слои грануляционной ткани умеренно или слабо инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами и лимфоцитами. В образцах ткани животных контрольной группы К3 и К4 определяются многоядерные симпласты, расположенные по краям поврежденной мышечной ткани (рис. 17). В образце ткани животного К1 молодые мышечные волокна располагаются по периметру регенерата.

В области краев раны наблюдается вакуолизация цитоплазмы эпителиальных клеток. В эпителиальном пласте появляются полости с жидкостью. Под эпителием имеется небольшая сеть плотно расположенных тонкостенных сосудов, отмечается увеличение числа клеток соединительной ткани. Постепенно эпителиальный пласт истончается и начинает напоздывать на поверхность грануляционной ткани (рис. 18).

В участках, граничащих с грануляционной тканью, наблюдается отек. Пучки коллагеновых волокон разрыхлены, между ними и на границе с грануляционной тканью определяются фибробласты,

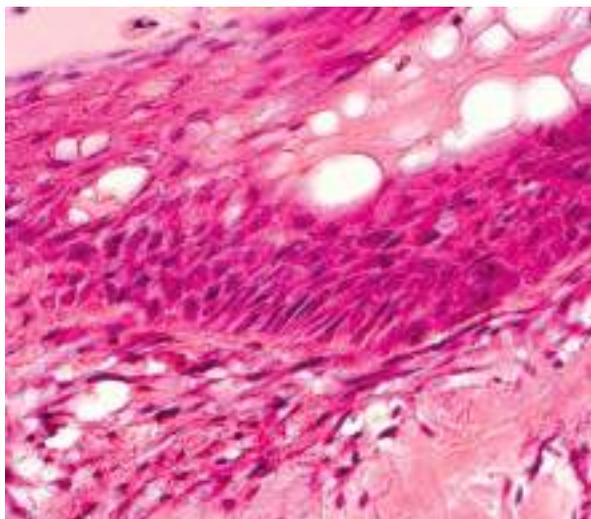


Рис. 18. Контроль. К4. Эпителий с вакуолями на границе с грануляционной тканью. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

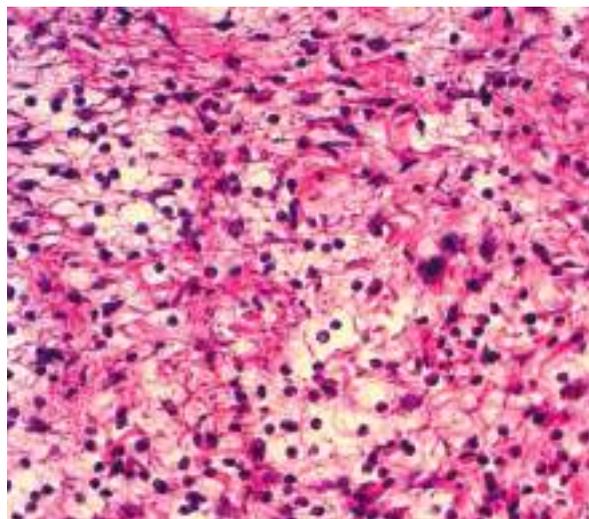


Рис. 19. Контроль. К4. Грануляционная ткань. Лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

очаговые скопления полиморфноядерных лейкоцитов, макрофагов и лимфоцитов (рис. 19).

В образцах ткани животных контрольной группы К1, К3 и К5 с одной стороны раны наблюдается нарастание эпителия в виде тонкого слоя на грануляционную ткань. В образцах ткани животного контрольной группы К2 и К4 нет признаков регенерации эпителиальной ткани на поверхности раны. В образце К3 размеры грануляционной ткани уменьшены по сравнению с остальными животными этой группы. Отмечается увеличение количества жидкости под струпом. Слои грануляционной ткани содержат большее количество коллагена.

#### **Описание гистологического исследования состояния кожной раны у животных, получавших лечение препаратом Ренериум на 6-е сутки исследования**

На поверхности раны располагается струп, состоящий из некротизированной ткани, пропитанной фибрином и полиморфноядерными лейкоцитами. Размеры струпа и количество инфильтрирующих его клеток увеличены по сравнению с контролем. В струпе имеются полости с жидкостью.

Под струпом определяется увеличенное по сравнению с контролем количество жидкости, содержащей полиморфноядерные лейкоциты. Жидкость распределена неравномерно по поверхности раны, чаще локализуется в периферических отделах (рис. 20).

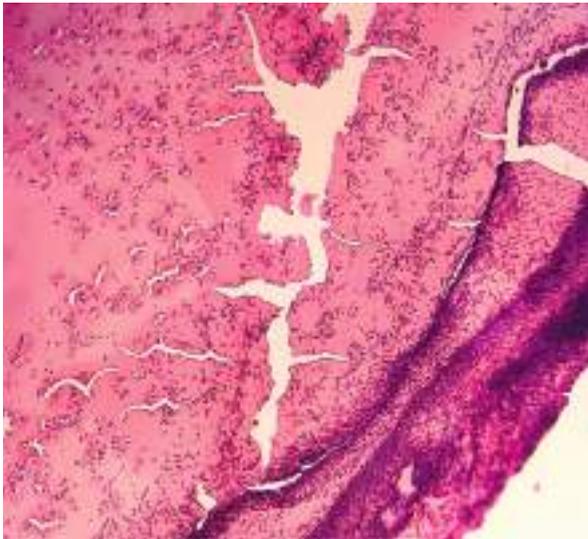


Рис. 20. Группа с применением Ренериума. Р1. Струп и жидкость на поверхности грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

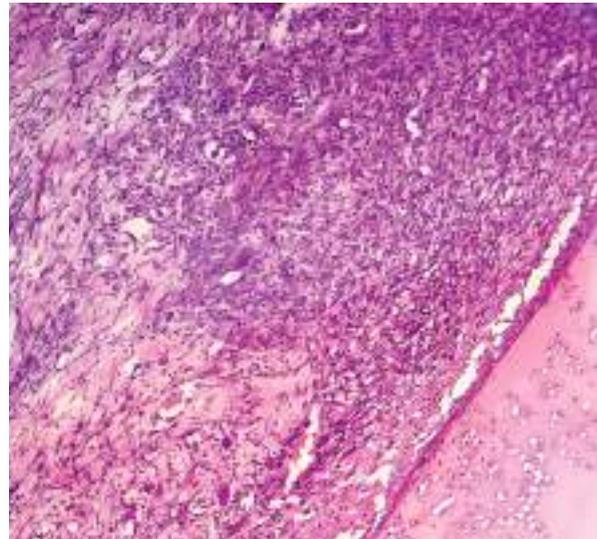


Рис. 21. Группа с применением Ренериума. Р1. Грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

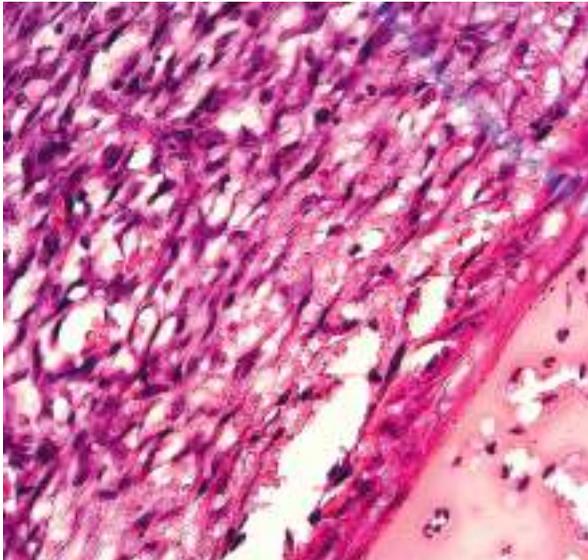


Рис. 22. Группа с применением Ренериума. Р3. Грануляционная ткань. Слой тонкостенных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

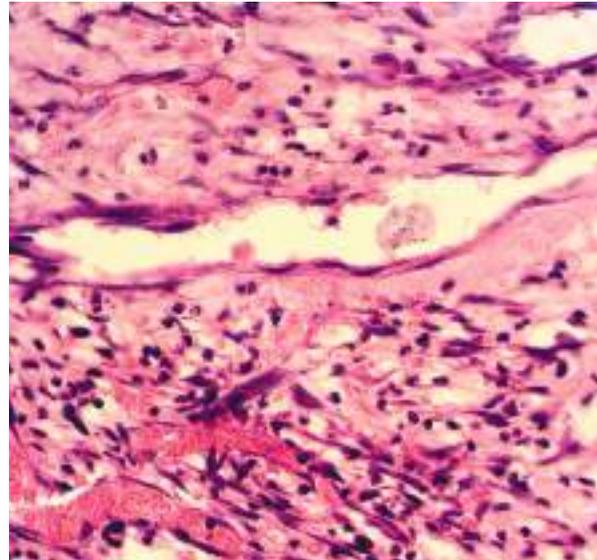


Рис. 23. Группа с применением Ренериума. Р5. Грануляционная ткань. Сосудистый слой, формирование оболочек в стенке кровеносного сосуда. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

Под слоем жидкости находится грануляционная ткань (рис. 21). В образцах ткани животных Р1, Р3 и Р5 ее размеры уменьшены по сравнению с контролем. Слои грануляционной ткани определяются менее четко по сравнению с контролем.

В верхних слоях грануляционной ткани плотно располагаются мелкие тонкостенные сосуды, в просвете которых видны эритроциты (рис. 22). Сосуды лежат параллельно поверхности раны. Верхние участки этой зоны пропитаны жидкостью и небольшим количеством эритроцитов. Далее располагаются крупные кровеносные сосуды, часть из них имеют вертикальное направление. Стенка сосудов утолщена, в ней наблюдается формирование оболочек. Эндотелий сосудов увеличен в размере. Вокруг сосудов видны группы фибробластов и тонкая сеть коллагеновых волокон (рис. 23).

Ниже этой зоны находится клеточный слой, характеризующийся высокой плотностью расположения клеток. В нем содержатся фибробласты, макрофаги, увеличено количество зрелых клеток соединительной ткани, имеющих фенотип фиброцитов и миофибробластов (рис. 24, 25).

В межклеточном веществе определяются участки, содержащие более толстые пучки коллагеновых волокон. Обращает на себя внимание значительно сниженное, по сравнению с контролем, количество лейкоцитов, инфильтрирующих грануляционную ткань (рис. 26-28).

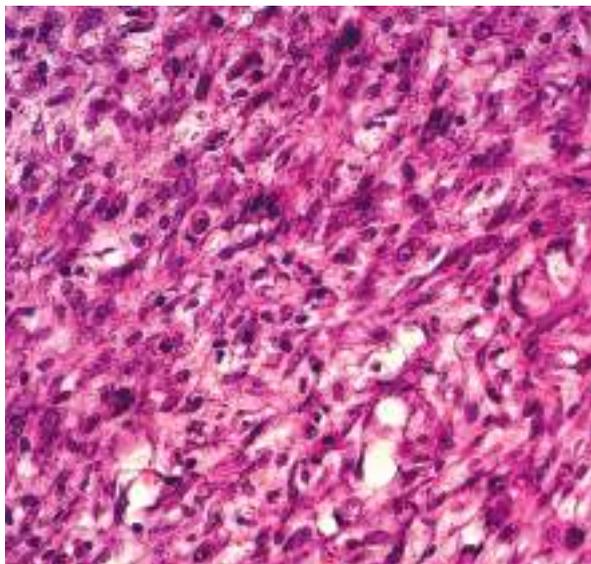


Рис. 24. Группа с применением Ренериума. Р1. Грануляционная ткань. Клеточный слой с фибробластами. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

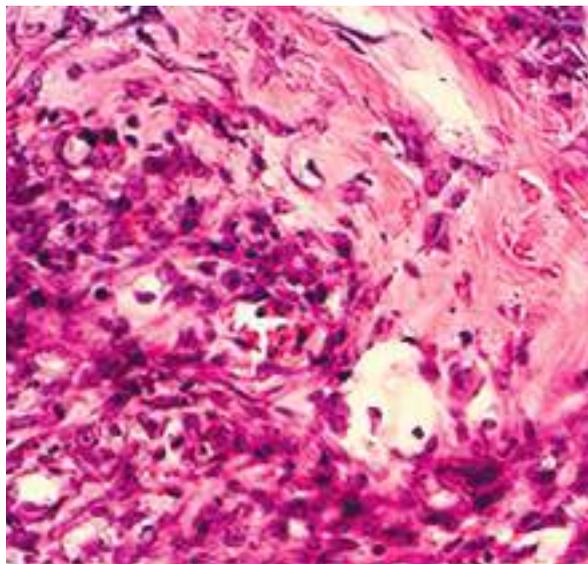


Рис. 25. Группа с применением Ренериума. Р1. Грануляционная ткань. Межклеточное вещество, утолщение коллагеновых волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

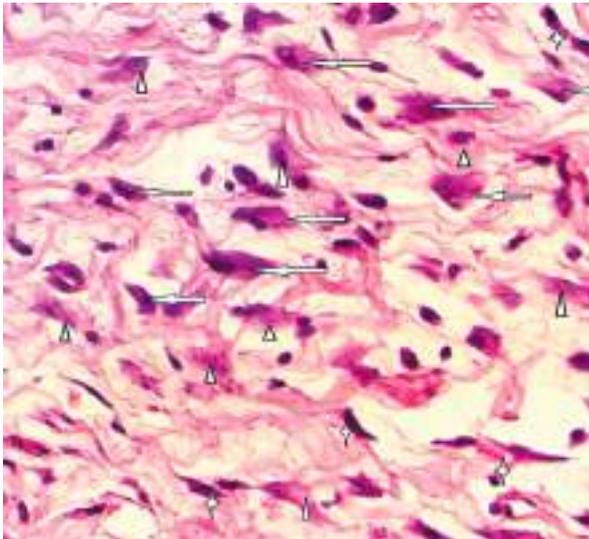


Рис. 26. Группа с применением Ренериума. P2. Грануляционная ткань. Клетки с фенотипом фибробластов (треугольники), фиброцитов (звездочки) и миофибробластов (стрелки) в зоне созревающей соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

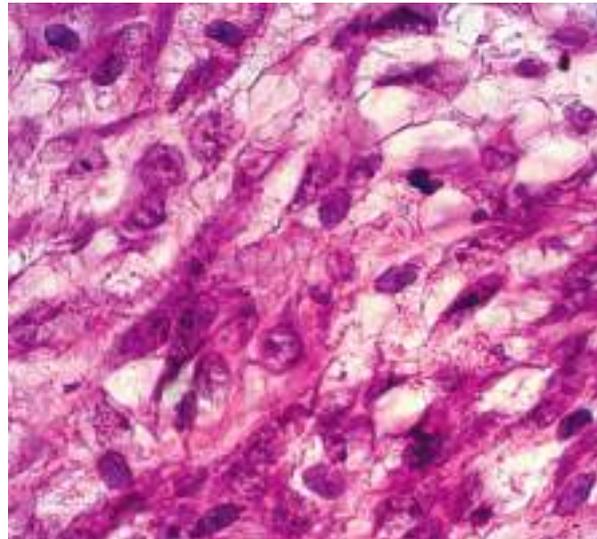


Рис. 27. Группа с применением Ренериума. P1. Грануляционная ткань. Клетки с фенотипом фибробластов в клеточном слое. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1000

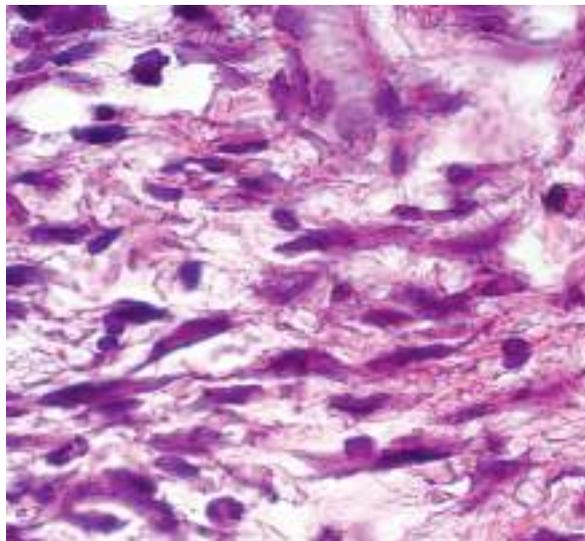


Рис. 28. Группа с применением Ренериума. P3. Грануляционная ткань. Клетки с фенотипом миофибробластов в зоне созревающей соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 1000

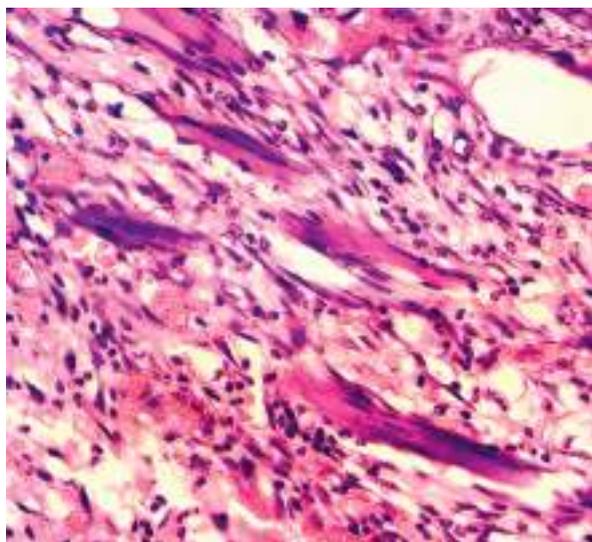


Рис. 29. Группа с применением Ренериума. Р5. Грануляционная ткань. Мышечные симпласты. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

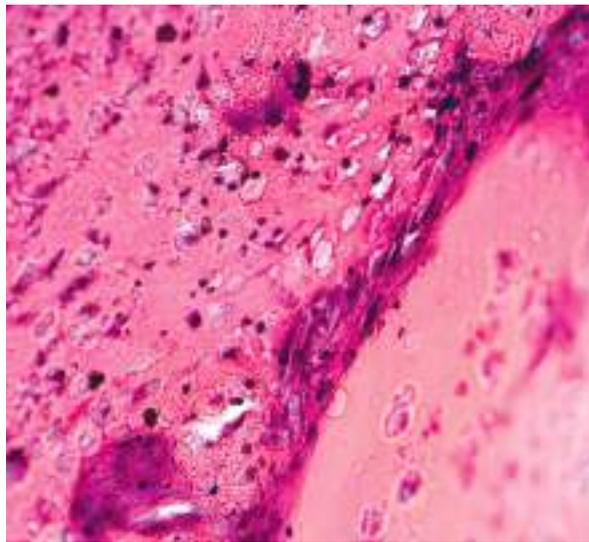


Рис. 30. Группа с применением Ренериума. Р1. Грануляционная ткань. Участок эпителизации. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400

Дно раны представлено более зрелой соединительной тканью и мышечной тканью (рис. 29).

В центральных и периферических участках раны определяются группы многоядерных симпластов, представляющих собой начальный этап формирования мышечных волокон. В образцах ткани животных Р2, Р3 и Р5 в центральных участках грануляционной ткани располагаются горизонтально тяжи молодых мышечных волокон, часть волокон лежат под углом к поверхности раны (рис. 30).

В области краев раны наблюдается гипертрофия эпителия и формирование в нем вакуолей с жидкостью и лейкоцитами. Под эпителием лежат полнокровные капилляры. В соединительной ткани сосочкового слоя дермы и по периметру грануляционной ткани происходит разрыхление коллагеновых волокон в результате отека, отмечается увеличение количества клеток соединительной ткани. На границе регенерата и дермы определяются скопления клеток, имеющих фенотип фибробластов. Лейкоцитарная инфильтрация дермы на границе с грануляционной тканью умеренная или слабая.

В образцах тканей Р1 происходит почти полное закрытие регенерата эпителиальной тканью. В образцах Р4 регенерация эпителия наблюдается в одной стороны раны на срезе.

В образцах ткани животных Р2 и Р4 размеры и строение грануляционной ткани соответствуют контролю. В образце ткани Р4 наблюдается значительное увеличение жидкости под струпом

с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, массивная воспалительная инфильтрация отмечается в грануляционной ткани.

Таким образом, применение Ренериума на раневую поверхность вызывает развитие грануляционной ткани, которая отличается от контроля следующими показателями:

1. Размеры струпа на поверхности увеличены, увеличено по сравнению с контролем количество жидкости и ее инфильтрация лейкоцитами.
2. Размеры грануляционной ткани уменьшены, слои определяются менее четко.
3. Лейкоцитарная инфильтрация грануляционной ткани, по сравнению с контролем, снижена.
4. В нижней части грануляционной ткани определяется более зрелая соединительная ткань.
5. В стенке кровеносных сосудов в сосудистом слое грануляционной ткани и ниже наблюдается формирование оболочек, эндотелий сосудов активный.
6. Отмечается наличие в клеточном и нижележащем слое грануляционной ткани зрелых клеток соединительной ткани, имеющих фенотип миофибробластов, характеризующихся более активной продукцией межклеточного вещества и способностью к сокращению размеров регенерата, и фиброцитов.
7. Более активной является регенерация эпителия в области краев раны: в контроле либо еще нет эпителизации, либо она наблюдается с одной стороны раны, при действии Ренериума у 4-х животных регенерация наблюдается с обеих сторон раны на срезе, у 1-го – с одной стороны. В образце Р1 эпителизация почти полностью закрывает поверхность регенерата.
8. Более активным является процесс новообразования мышечных волокон: в контроле наблюдается образование только многоядерных симпластов, при действии Ренериума видны уже новообразованные волокна в центре регенерата.

Проведенные нами более ранние исследования аналогичного дизайна, отличавшиеся продолжительностью до 14 дней, показали, что в 14-м суткам наблюдения в области кожной раны формируется практически здоровая кожа, дифференцируются ее слои. В большинстве образцов ткани поврежденной кожи участок рубцовой ткани мало отличается от здоровой ткани. Рубцовая ткань характеризуется более плотным расположением волокон в сосочковом слое дермы и небольшим скоплением клеток с фенотипом фибробластов под эпидермисом в сосочках. В рубцовой зоне образцов Р3 и Р4 содержатся в небольшом количестве волосяные фолликулы и сальные железы (рис. 31-33).

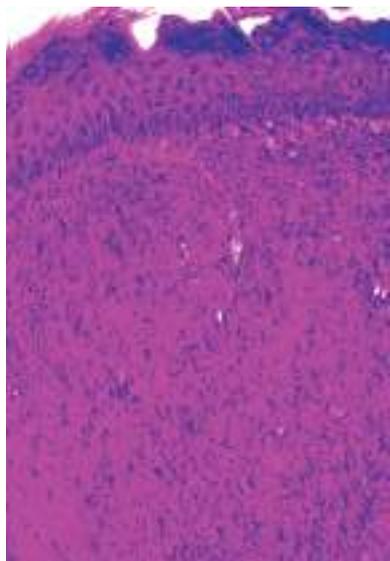


Рис. 31. P2. Кожа. Рубцовая область. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

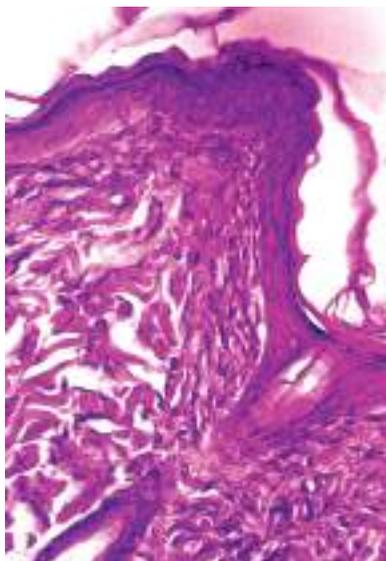


Рис. 32. P1. Кожа. Рубцовая область. Эпидермис и уплотнение сосочкового слоя дермы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

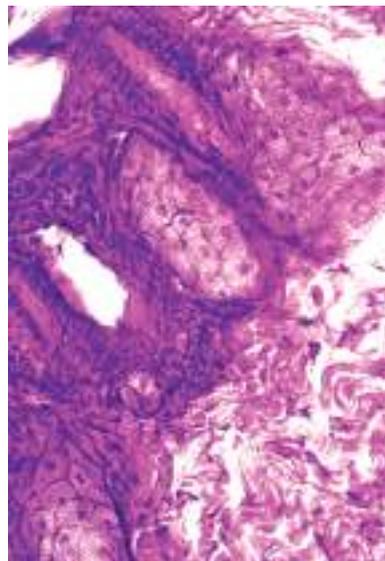


Рис. 33. P4. Кожа. Рубцовая область, содержит волосяные фолликулы и сальные железы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Заключение о результатах гистологического исследования. На основании полученных данных гистологического исследования образцов материала крыс на модели плоскостной кожной раны установлено, что при местном нанесении на рану препарата Ренериум по сравнению с контрольной группой животных, получавших аппликации 0,9% раствора хлорида натрия, отмечается наличие большего количества участков упорядоченной структуры волокон с формирующимися и сформированными функциональными элементами – волосняными волокнами и сальными железами, что свидетельствует о более полном и быстром процессе регенерации.

Таким образом, в результате контролируемого исследования установлены признаки эффективности препарата Ренериум в отношении скорости заживления плоскостной кожной раны, в т.ч. были установлены гистологические отличия от контрольных животных, получавших аппликации 0,9% раствором NaCl. Выявлена нормализация расположения новообразованных коллагеновых волокон, уменьшение толщины их плотного расположения преимущественно параллельно поверхности кожи. Структура напоминала рыхлую соединительную ткань. Эпидермис дифференцируется на слои, но утолщен за счет шиповатого и зернистого слоев в виде более плотного рас-

положения волокон в сосочковом слое дермы и небольшим скоплением клеток с фенотипом фибробластов под эпидермисом в сосочках в области формирования рубцовой ткани. Дерма характеризуется уменьшением количества тонкостенных сосудов по сравнению с контролем. В 2-х из 4-х опытных образцов отмечается формирование волосяных фолликулов и сальных желез в большом количестве.

Результаты исследования эффективности ежедневных 20-минутных местных аппликаций препарата Ренериум в течение 5 дней, начиная с дня нанесения кожной раны показали эффективность нового ионного препарата микроэлементов переменной валентности, проявляющуюся в ускорении регенерации поврежденного участка кожи.

## **Клиническая эффективность и безопасность препарата Ренериум при лечении респираторных заболеваний**

Клиническая апробация выполнялась на базе ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России и ГАУЗ ПК ГKB №4 г. Перми на ограниченном контингенте добровольцев в соответствии с решением этического комитета ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (Протокол № 12 от 23.12.2021 г.). Исследование зарегистрировано в Министерстве здравоохранения Российской Федерации № 123062200020 и проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. У каждого пациента получено письменное информированное согласие.

План клинической апробации включал изучение эффективности и безопасности двух форм препарата Ренериум: ингаляционной формы и гигиенического средства Ренериум-спрей для ухода за полостью носа и рта.

Цель исследования состояла в сравнительном изучении эффективности минерального комплекса, содержащего ионы церия, марганца, цинка, серебра, и отдельных его компонентов с участием волонтеров, больных острыми респираторными заболеваниями.

### **Материал и методы исследования**

План клинической апробации включал: 1) определение безопасности препарата на здоровых волонтерах (48 человек); 2) клиническую апробацию эффективности в форме сравнительного исследования с включением 101 пациента с острыми вирусными респираторными заболеваниями, внебольничной пневмонией, бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и хроническим деформирующим бронхитом с единичными цилиндрическими бронхоэктазами. Условием проведения клинической апробации было подписанное информированное согласие.

Клиническую апробацию выполняли на добровольцах в следующих клинических группах:

1. Группа практически здоровых лиц в возрасте 19-61 лет, м 5, ж 16, получавших интраназальный спрей Ренериум по 1 дозе в каждый носовой ход 2 раза в день на протяжении 5 дней.
2. Группа практически здоровых лиц в возрасте 19-61 лет, м 11, ж 16, получавших ингаляции препарата Ренериум через компрессорный небулайзерный ингалятор в объеме 5 мл на 1 ингаляцию 1 раз в день на протяжении 5 дней.
3. Группа больных ОРВИ без идентификации возбудителя в форме ринита, фарингита, бронхита в возрасте 22-64 лет, м – 12, ж – 21, получавших интраназальный спрей Ренериум по 1 дозе в каждый носовой ход 2 раза в день на протяжении 5 дней.
4. группа больных ОРВИ без идентификации возбудителя в форме ринита, фарингита, бронхита в возрасте 21-67 лет, м – 9, ж – 11, получавших симптоматическое лечение назальными деконгестантами, а также интраназальный спрей 0,9% раствора хлорида натрия (контрольная группа).
5. Группа больных, перенесших коронавирусную инфекцию в форме пневмонии с формированием постковидного синдрома при наличии умеренно выраженной гипоксической дыхательной недостаточности ( $SpO_2$  88-95%) и нарушении толерантности к физической нагрузке. Возраст 23-59 лет, м – 9, ж – 12. Больные получали ингаляции препарата Ренериум через компрессорный небулайзерный ингалятор в объеме 5 мл на 1 ингаляцию 1 раз в день на протяжении 5 дней на фоне стандартной терапии.
6. Группа больных, перенесших коронавирусную инфекцию в форме пневмонии с формированием постковидного синдрома при наличии умеренно выраженной гипоксической дыхательной недостаточности ( $SpO_2$  88-95%) и нарушении толерантности к физической нагрузке. Возраст 19-63 лет, м – 11, ж – 16. Больные получали стандартную терапию ингаляционными глюкокортикоидами в комбинации с бета2-агонистами в средних терапевтических дозах, а также ингаляции 0,9% раствора хлорида натрия по 5 мл через компрессорный небулайзерный ингалятор 1 раз в день на протяжении не менее 5 дней (контрольная группа).

Применяли сравнительный, параллельный, рандомизированный, ослепленный дизайн клинического исследования.

Группа практически здоровых лиц, получавших ингаляционный препарат Ренериум, была представлена студентами ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, а также взрослыми здоровыми волонтерами 2-го зрелого возраста различных профессий. Всего обследовано 48 человек, из них 16 мужчин и 32 женщины в возрасте 19-61 лет. Все участники

исследования подписали информированное согласие. На момент обследования пациенты отрицали наличие острого респираторного заболевания, а также хронических болезней. Тем не менее, при интерактивном опросе у части обследованных выявлены единичные респираторные симптомы в виде кашля, а также легкие ограничения физической активности.

Критерии включения в группы наблюдения 3, 4, 5 и 6 соответствовали наличию заболевания и подписанию добровольного информированного согласия на участие в исследовании, обозначенного для каждой группы. Критерии исключения: тяжелое течение острого респираторного заболевания, наличие острой дыхательной недостаточности, лихорадка выше 37,1 °С, клинические симптомы сердечной, почечной, печеночной недостаточности, синдромы цитолиза и холестаза, кахексии, психических или поведенческих нарушений, алкогольной или наркотической зависимости, нарушений сердечного ритма, хроническая болезнь почек, сахарный диабет, заболевания центральной нервной системы, эндокринных желез, иммунодефицитные состояния, когнитивные нарушения, наличие другой клинически значимой соматической патологии или мотивированный отказ от участия в исследовании, а также детский или старческий возраст.

Оценивали выраженность одышки по шкале Борга, интенсивность кашля по визуально-аналоговой шкале, толерантность к физической нагрузке на основании визуально-аналоговой шкалы, принимая за 10 баллов – способность переносить чрезмерные физические нагрузки, 0 – неспособность одеться и выйти из дома.

Таблица 4. Шкала оценки эффективности препарата Ренериум – спрей для носа

№ п/п	Симптомы	Оценка											
		-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	
1	Уменьшение насморка												
2	Уменьшение заложенности носа												
3	Уменьшение зуда в носу												
4	Уменьшение чихания												
5	Нос стал дышать свободно												
6	Появились необычные ощущения в носу												
7	Боль в горле стала меньше												
8	Исчезли затруднения при глотании												
9	Появились неприятные ощущения в горле												
10	Исчезла потребность в применении других препаратов для лечения носа, глотки и/или гортани												

Таблица 5. Шкала оценки динамики симптомов респираторного заболевания под влиянием ингаляционного препарата Ренериум

**Оценка эффективности препарата Ренериум (небулайзер)**

ФИО пациента \_\_\_\_\_ История болезни № \_\_\_\_\_

Даты лечения: с \_\_\_\_\_ по \_\_\_\_\_

Отвечая на вопросы анкеты, укажите, насколько вы согласны (положительная шкала) или не согласны (отрицательная шкала) с утверждением. Если выраженность симптома не изменилась, укажите «0», если симптом отсутствовал, пропустите вопрос.

№ п/п	Симптомы	Оценка											
		-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	
	Применение препарата сопровождалось:												
1	Уменьшение одышки												
2	Уменьшение кашля												
3	Уменьшение отделяемой мокроты												
4	Уменьшение чувства заложенности в груди												
5	Уменьшение чувства сдавления в груди												
6	Уменьшение хрипов в груди												
7	Уменьшение приступов одышки												
8	Увеличение вашей физической активности												
9	Уменьшение насморка												
10	Уменьшение чувства заложенности носа												
11	Уменьшение зуда в носу или в носоглотке												
12	Нос стал дышать свободно												
13	Появились необычные ощущения в носу												
14	Боль в горле стала меньше												
15	Исчезли затруднения при глотании												
16	Появились неприятные ощущения в горле												
17	Исчезла потребность в применении других препаратов для лечения носа, глотки и/или гортани												
18	Снизилась или нормализовалась температура тела												

Описание ответа:

- 5 – Совершенно не верно
- 4 – Не верно
- 3 – Не верно
- 2 – Не верно
- 1 – Кажется не верно
- 0 – не изменилось
- 1 – Кажется, что верно
- 2 – Верно
- 3 – Верно
- 4 – Верно
- 5 – Совершенно верно

Оценка динамики симптомов проводилась на основе шкал Ликерта (табл. 4, 5). Все больные, перенесшие коронавирусную инфекцию, обследованы в условиях стационара пульмонологического отделения ГАУЗ ПК ГКБ № 4 согласно Временным клиническим рекомендациям: профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (Covid-19). Версия 15 (22.02.2022) и Временным методическим рекомендациям: Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (Covid-19). Версия 2 (31.07.2020). [12,13].

Дополнительно 10 пациентов основной группы и 11 из группы сравнения (группа 6, получавших ингаляции 0,9% раствора хлорида натрия) использовали смарт-часы Amazfit U Bip Pro с функциями оценки сатурации кислорода, ЧСС, дистанции пройденного пути, количества шагов, продолжительности и фазы ночного сна.

### **Исследуемые минеральные комплексы**

Препарат Ренериум изготовлен ООО «Ренериум» в гепариновых флаконах по 5 мл прозрачной бесцветной жидкости, содержит раствор ионов церия (0,35-0,50 мкг/л), марганца (10-20 мкг/л), цинка (5-7 мкг/л) и серебра (0,15-0,20 мкг/л) в 0,9% растворе NaCl. Раствор стерильный, предназначен для ингаляций по 5 мл 1 раз в день. Курс лечения состоит из 5 ингаляций.

Гигиеническое средство «Ренериум» для ухода за слизистыми оболочками полости носа и рта имеет состав, близкий к ингаляционной форме с добавлением гидрокарбоната натрия (пищевой соды), сульфата магния (20-30 мкг/л), минимального количества эфирных масел можжевельника и с меньшим содержанием хлорида натрия. Жидкость бесцветная, прозрачная с легким запахом можжевельника, выпускается во флаконах-спрей по 10,0 мл или в пластиковых флаконах с капельницей по 10, 25 и 50 мл. Назальный спрей «Ренериум» применялся в каждую половину носа не

менее 2 раз в день (пациент мог самостоятельно регулировать количество раз применения препарата в зависимости от выраженности симптомов острого заболевания верхних дыхательных путей). Максимальная доза составила 5 мл препарата в сутки.

*Статистическая обработка* результатов клинической апробации проводилась с применением программного пакета Statistica 10.0. Частота выявления и динамики симптомов оценивалась относительной величиной в % к общему числу пациентов в группе. При обработке шкал Ликерта использовали подсчет среднеарифметического значения баллов. Сравнительный анализ проводили с использованием критериев Манна-Уитни и Вилкоксона.

### Результаты

Группа 1 (практически здоровые лица). На момент обследования пациенты отрицали наличие острого респираторного заболевания, а также хронических болезней. Тем не менее, при интерактивном опросе у части обследованных выявлены единичные респираторные симптомы в виде кашля, а также легкие ограничения физической активности (среди лиц второго зрелого возраста). В процессе терапии препаратом назальный спрей Ренериум статистически значимых изменений симптомов не установлено. Из 21 человек контрольной группы практически здоровых лиц только в 2-х случаях было отмечено появление небольших светлых выделений из носа на фоне применения препарата.

Группа 2 (практически здоровые лица). В процессе ингаляционной терапии статистически значимых изменений симптомов не установлено, но в одном случае отмечено появление слабоинтенсивного кашля с небольшим количеством мокроты белого цвета (не более 5 мл в сутки).

Результаты оценки респираторных симптомов в группе практически здоровых лиц под влиянием ингаляционного препарата Ренериум представлены в табл. 6.

Таблица 6. Динамика показателей в процессе реабилитационной программы. Здоровые (n=27)

Шкалы оценки	До лечения	После лечения
Шкала Борга	0,0±0,00	0,0±0,00
ВАШ оценки кашля	0,0±0,31	0,2±0,49
ВАШ оценки толерантности к физической нагрузке	9,3±0,64	9,2±0,65

\* - достоверные различия в группе

Группа 3 (пациенты с острым респираторным заболеванием, получавшие назальный спрей Ренериум). Оценка динамики симптомов заболевания в форме ответов на вопросы шкалы Ликерта представлены в табл. 7, 8.

Таблица 7. Оценка эффективности препарата Ренериум – спрей для носа

Номер вопроса	М	$\sigma$	Me	10%	90%
1	2,3	1,35	2,0	0	4
2	2,5	1,74	3,0	0	5
3	0,6	0,94	0,0	0	2
4	0,9	2,33	0,0	0	5
5	1,5	1,73	0,0	0	5
7	0,0	2,04	0,0	-5	5
8	0,0	0,0	0,0	0	0
10	1,9	2,10	1,0	0	5

Таблица 8. Оценка нежелательного действия препарата Ренериум – спрей для носа

Номер вопроса	М	$\sigma$	Me	10%	90%
6	-1,7	2,44	0,0	-5	0
9	-1,8	2,49	0,0	-5	0

Результаты соответствовали утверждениям об уменьшении заложенности носа, насморка, уменьшении количества применяемых лекарственных препаратов для облегчения носового дыхания и ощущению свободы носового дыхания. При этом у большинства пациентов не возникало необычных ощущений в носу или в горле, а имеющиеся указанные побочные действия у 1 человека носили слабовыраженный характер (2 балла по 5-бальной шкале). Большинство пациентов пожелали повторно применить назальный спрей Ренериум, если вновь возникнут проявления острого респираторного заболевания. Вместе с тем, эффективность препарата была умеренной у большинства больных и только 4 пациента дали 5-бальные оценки эффективности из 5 возможных баллов (20% пациентов).

Группа 4 (группа контроля – пациенты с острым респираторным заболеванием, получавшие традиционную терапию). Результаты клинической эффективности представлены в табл. 9 и 10.

Таблица 9. Оценка динамики симптомов в контрольной группе

Номер вопроса	M	$\sigma$	Me	10%	90%
1	0,6	1,23	0,1	0	2
2	0,5	1,11	0,0	0	1
3	0,3	1,55	0,0	0	2
4	0,3	1,13	0,0	0	2
5	0,5	1,96	0,0	0	5
7	0,2	0,98	0,0	-5	2
8	0,0	0,2	0,0	-4	1
10	0,1	0,57	1,0	0	2

Таблица 10. Оценка нежелательных эффектов в контрольной группе

Номер вопроса	M	$\sigma$	Me	10%	90%
6	-1,1	2,54	-0,1	-4	1
9	-1,2	2,33	0,0	-4	0

Результаты эффективности лечения в контрольной группе были сомнительными.

Группа 5. Основная группа больных имела проявления новой коронавирусной инфекции Covid-19 в форме пневмонии с визуальной оценкой КТ-картины грудной клетки 1-3 степени распространенности поражения в период максимальной выраженности симптомов заболевания. Имели место симптомы «матового стекла», а также единичные фокусы консолидации легочной ткани у отдельных пациентов. В период обследования больные находились на этапе реабилитации, имели нормальную температуру тела, дыхательную недостаточность, проявляющуюся различной степенью снижения сатурации кислорода в тканях при выполнении физической нагрузки в виде ходьбы по коридору, по лестнице. Клинические симптомы поражения верхних дыхательных путей на момент проведения реабилитационной программы были не выражены и наблюдались у отдельных больных. Динамика симптомов заболевания представлена в табл. 11.

Новый ионный ингаляционный препарат уменьшал выраженность одышки и кашля, восстанавливал толерантность к физической нагрузке. Отмечены случаи прекращения кровохарканья у больных новой коронавирусной инфекцией Covid-19.

Таблица 11. Динамика показателей в процессе реабилитационной программы больных острыми респираторными вирусными заболеваниями.

Шкалы оценки	Больные, перенесшие острые вирусные респираторные инфекции, включая больных после Covid-19. (Основная группа, n=21)		Больные, перенесшие острые вирусные респираторные инфекции, включая больных после Covid-19. (Группа сравнения, n=21)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Шкала Борга	7,4±1,88	4,3±1,49*	6,9±1,44	6,4±0,78
ВАШ оценки кашля	6,2±1,14	2,4±0,11*	5,4±1,59	5,0±1,19
ВАШ оценки толерантности к физической нагрузке	3,3±1,43	7,5±1,69*	4,3±1,62	5,5±1,98*
SpO <sub>2</sub>	90,2±1,12	93,9±1,24*	91,2±0,98	92,1±1,74

\* - достоверные различия в группе

Динамика дополнительных параметров здоровья больных полученных методом удаленного мониторинга с использованием смарт-часов Amazfit U Bip Pro, представлена в табл. 12.

Таблица 12. Динамика объективных показателей удаленного мониторинга.

Параметры наблюдения	Основная группа (n=10)		Группа сравнения (n=11)	
	До лечения	После	До лечения	После
частота пульса (в мин.)	102,9±10,4	81,4±7,5*	105,2±11,1	94,0±10,9
максимальная частота пульса за 24 часа (в мин.)	132,7±18,3	97,7±5,9*	131,8±14,5	111,8±10,8
SpO <sub>2</sub> (%)	92,1±1,0	95,6±1,3*	91,8±1,6	93,9±1,7
продолжительность ночного сна (часы)	4,2±1,3	6,8±1,5*	3,8±2,2	4,5±2,7
количество пройденных шагов за 24 часа (шаги)	387,8±138,5	701,8±119,1*	370,1±197,4	528,7±143,5*

\* - p &lt; 0,05 между основной и контрольной группами

Представленные результаты объективного удаленного мониторинга демонстрируют существенное улучшение параметров здоровья у больных острыми респираторными заболеваниями, получавших препарат Ренериум в ингаляциях на этапе реабилитации.

Динамика рентгенологической картины органов грудной клетки по данным компьютерной томографии прослежена у 16 больных. Отмечается уменьшение объема поражения легочной ткани за счет теней по типу «матового стекла» и ретикулярных изменений. В случаях преобладания интерстициального фиброза, очагов консолидации существенной положительной динамики не выявлено. Наиболее выраженные положительные результаты лечения наблюдались у больных, имевших поражение легочной ткани 1-2 степени по данным КТ-исследования, при неудовлетворительных результатах лечения больных, имевших 3 степень распространенности поражения легких после Covid-19.

Результаты применения шкалы Ликерта в группе больных, получавших ингаляции препарата Ренериум, представлены в таблицах 13 и 14 и рис. 34.

Таблица 13. Оценка эффективности ингаляционного препарата Ренериум

Номер вопроса	M	$\sigma$	Me	10%	90%
1	3,9	1,35	2,0	2	5
2	3,6	1,31	2,0	2	4
3	4,5	1,12	2,0	0	5
4	4,9	0,28	5,0	4	5
5	1,5	1,73	0,0	0	5
6	2,4	2,58	2,0	1	5
7	2,1	2,32	2,0	1	5
8	4,7	0,39	4,0	3	5
9	2,9	1,33	2,0	1	4
10	3,1	2,41	3,0	1	5
11	0,5	0,98	0,0	0	3
12	2,5	1,27	2,0	1	5
14	0,1	2,87	0,0	0	5
15	0,2	2,54	0,0	0	5
17	4,2	2,22	4,0	0	5
18	4,7	0,79	5,0	4	5

Таблица 14. Оценка нежелательного действия ингаляционного препарата

Номер вопроса	M	$\sigma$	Me	10%	90%
13	-2,9	2,12	-1,0	-5	0
6	-4,1	2,44	-2,0	-5	0

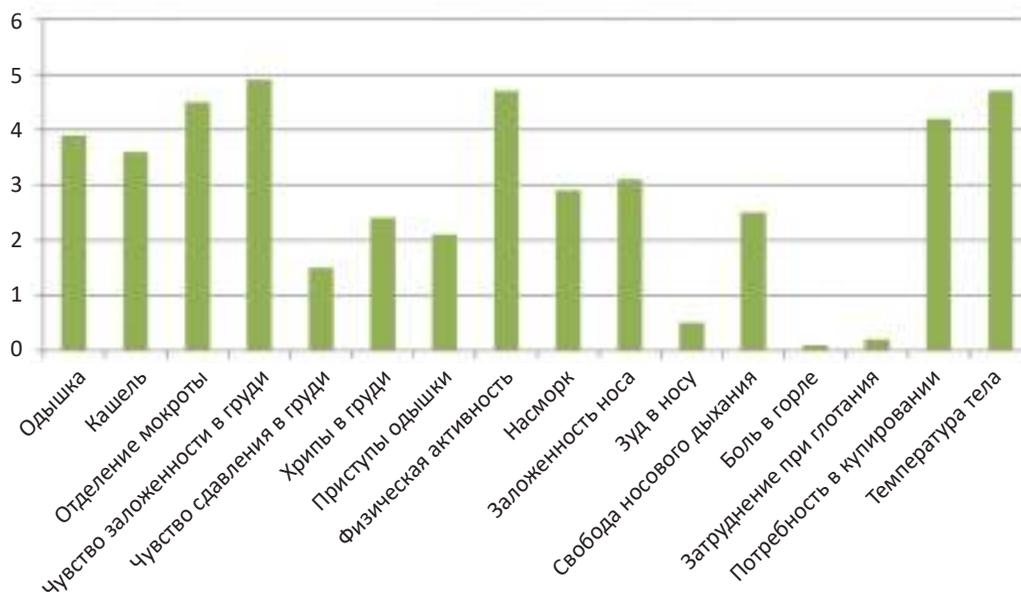


Рис. 34. Симптомы респираторного заболевания, изменившиеся под влиянием ингаляционного препарата Ренериум по шкале Ликерта с максимальной оценкой 5 баллов

Как показано на рис. 34, одышка, кашель, отхождение мокроты, чувство заложенности в груди, потребность в купировании одышки или назальных симптомов, а также повышение температуры тела и снижение физической активности были симптомами, в максимальной степени редуцированными под влиянием 5-и дневной терапии препаратом Ренериум в форме небулайзерных ингаляций, практически до полного прекращения в большинстве случаев.

Результаты субъективной оценки эффективности и безопасности ингаляционного препарата Ренериум у больных острыми респираторными вирусными заболеваниями, внебольничной пневмонией, бронхиальной астмой, ХОБЛ и хроническим деформирующим бронхитом показали хорошую переносимость и отсутствие серьезных нежелательных действий, выявлены единичные

случаи (3) неприятных ощущений в носоглотке. Клиническая эффективность характеризовалась: уменьшением чувства заложенности в груди, увеличением физической активности, уменьшением объема отделяемой мокроты, снижением интенсивности кашля и одышки, потребности в применении других препаратов для уменьшения симптомов респираторного заболевания, другими положительными сдвигами клинической картины заболевания.

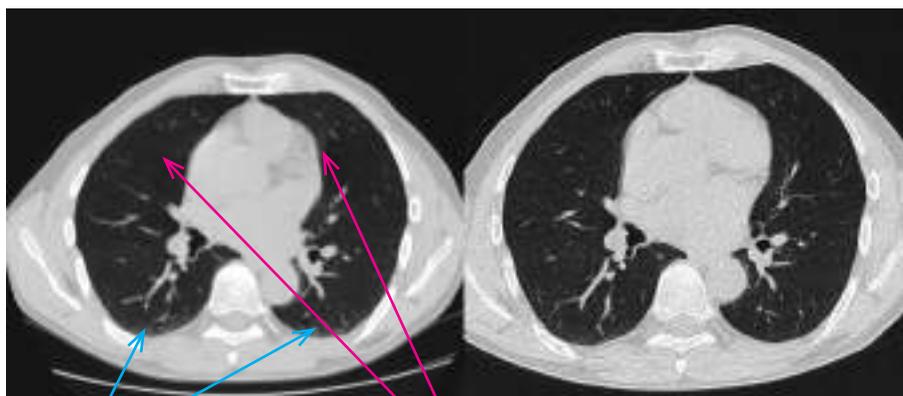
### Клинический пример

Мужчина 54 лет перенес Covid-19 в октябре-ноябре 2021 года, лечение проводилось амбулаторно. Изменения на КТ органов грудной клетки соответствовали 1 степени. В феврале 2022 года обратился за медицинской помощью в связи со снижением работоспособности, общей слабостью, утомляемостью, одышкой при повседневной физической нагрузке (ходьба, уборка снега).

Объективно: удовлетворительного состояния, физиологическая окраска кожных покровов и слизистых оболочек, грудная клетка правильной формы, правая половина несколько отстаёт в акте дыхания. Определяется ясный легочный звук, снижение экскурсии правого нижнего легочного края до 2-3 см по правой срединноключичной линии. Дыхание жесткое везикулярное, хрипы не выслушиваются.

4 февраля 2022 г.

12 марта 2022 г.



Участки фиброза паренхимы легких

«Матовое стекло»

Рис. 35. Динамика КТ-картины легочной ткани под влиянием лечения

Спирометрия без особенностей, SpO<sub>2</sub> в покое – 94%. Мазок из носоглотки на Covid-19 отрицательный.

Выполнено КТ-исследование органов грудной клетки 04.02., на котором определялись немногочисленные по объему поражения тени по типу «матового стекла», ретикулярные изменения в 4 сегментах (рис. 35). Больной подписал информированное согласие для участия в научном исследовании.

Программа лечения включала ингаляции препарата Ренериум однократно в сутки на протяжении 5 дней.

В процессе лечения больной отметил появление небольшого количества мокроты при сохранении малой интенсивности кашля. Уменьшение одышки и кашля отмечено к 5-му дню лечения, прекращение симптомов заболевания, уменьшение одышки, восстановление работоспособности к 14 дню от начала ингаляционной терапии. Повторное КТ-исследование органов грудной клетки проведено 12.03., на котором отмечено исчезновение теней, включая тип «матового стекла» и ретикулярные тени (рис. 35).

Группа 6. Результаты лечения больных контрольной группы продемонстрировали низкую эффективность 5-и дневного курса ингаляционных глюкокортикоидов в сочетании с ингаляциями 0,9% раствора хлорида натрия при острых воспалительных заболеваниях органов дыхания.

## Эффективность и безопасность отдельных компонентов препарата Ренериум

Препарат Ренериум имеет природное происхождение. Основными компонентами, определяющими эффективность препарата, являются ионы  $\text{Ce}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{7+}$  и  $\text{Ag}^+$ . Для изучения роли каждого компонента препарата и их взаимодействия были изготовлены опытные партии моно- и двух-компонентных препаратов, которые были приготовлены в виде прозрачных бесцветных растворов по 10 мл во флаконах назального спрея. Клинические наблюдения выполнены на участниках научного коллектива, имеющих клинические симптомы нетяжелого острого респираторного вирусного заболевания с поражением верхних дыхательных путей без идентификации вируса, на основании их добровольного согласия. Препарат вводили в обе половины полости носа по 1-2 дозы в каждый носовой ход многократно на протяжении суток так, чтобы суточная доза приближалась к 10 мл препарата.

Эффективность различных форм солевых препаратов в форме назального спрея отражена на рис. 36. Наиболее заметными результатами оценки эффективности различных форм были чувство свободы носового дыхания и снижение потребности в купировании назальных симптомов деконгестантами.

Результаты применения моносолевых препаратов в форме назального спрея (препарат  $\text{CeCl}_3$  (доза ионов  $\text{Ce}^{3+}$  0,5 мкг/л), назальный спрей;  $\text{ZnSO}_4$  5 мкг/л, назальный спрей), а также комбинированного препарата, содержащего  $\text{CeCl}_3$  и  $\text{ZnSO}_4$  наглядно показали, что клинический эффект пропорционален количеству компонентов солевого раствора, слабовыражен при использовании монокомпонентных препаратов, практически в 2,5-3 раза выше в случае применения комбинации солей церия и цинка. При сравнении с данными, представленными в табл. 7 и 8 с применением комплексного препарата, содержащего ионы церия, цинка, марганца и серебра (препарат Ренериум),

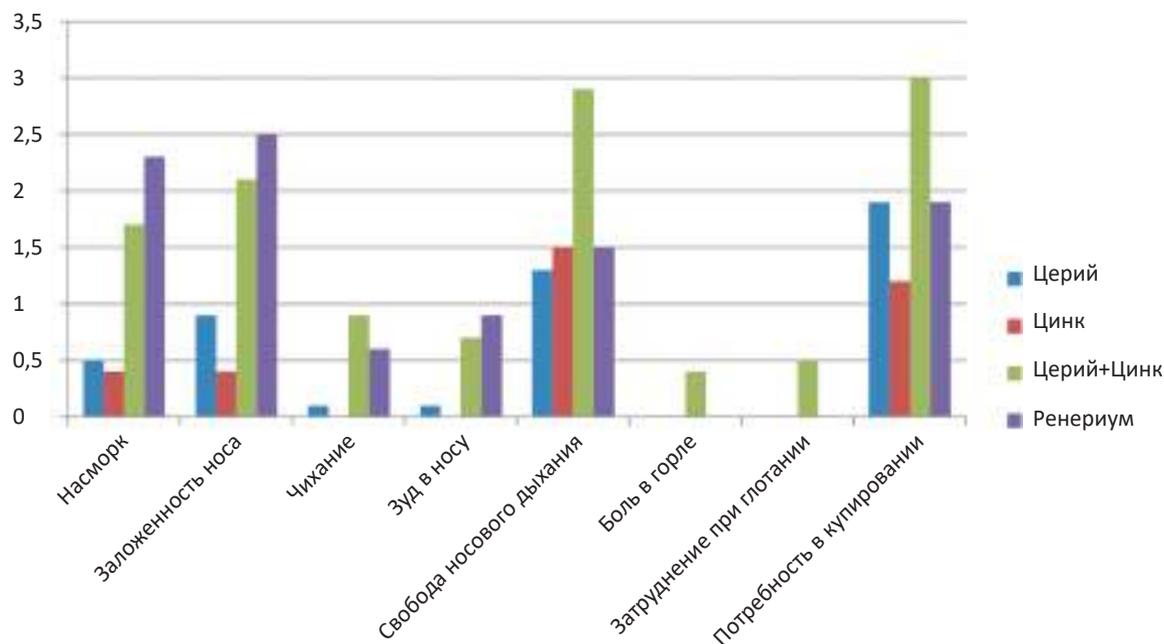


Рис. 36. Симптомы респираторного заболевания, изменившиеся под влиянием ингаляционного препарата Ренериум по шкале Ликерта с максимальной оценкой 5 баллов

отмечается преимущество многокомпонентного препарата. Появление легких необычных ощущений в носу или неприятных ощущений в горле отмечено у единичных пациентов без различий между группами больных.

### **Обсуждение результатов доклинических исследований, клинической эффективности и безопасности препарата Ренериум при лечении респираторных заболеваний**

Комплекс проведенных доклинических исследований и клинической апробации препарата Ренериум в форме ингаляций с помощью небулайзера и назальной формы убедительно продемонстрировали его противовоспалительные и регенераторные свойства в отношении респираторного эпителия. Клиническая эффективность установлена только в отношении минерального комплекса, содержащего не менее двух ионов металлов переменной валентности, но не отдельных его компонентов. Полученные результаты можно объяснить взаимодействием компонентов минерального комплекса друг с другом, а также с компонентами слизистой оболочки и секрета дыхательных путей. Как известно, ионы церия (III) проявляют восстановительные свойства в присутствии

окислителя. В том числе, способны к элиминации супероксид аниона и других окислителей. Регуляция процессов пероксидации может происходить в области клеточной мембраны, что влияет на состояние рецепторного поля клетки, на уровне митохондрий, где избыток кислородных радикалов подавляет синтез АТФ, и в области ядра клетки, где кислородные радикалы могут быть причиной ошибок редупликации ДНК.

Проведенные нами простые, описанные в предыдущих главах, химические реакции с участием ионов церия подтверждают восстановительные свойства ионов церия (III). Предложенная гипотеза также соответствует полученным клиническим данным. Тем не менее, «быстрый» клинический эффект ингаляционной формы препарата, возможно, более выраженный, чем при использовании других антиоксидантов. Прямых сравнительных исследований не проводилось, но теоретическое обоснование такого эффекта заключается в реализации реакции Белоусова-Жаботинского (автоколебательных окислительно-восстановительных реакций) в системе химических элементов. Первый этап реакции катализируется ионами церия (III) с образованием ионов церия (IV) который затем может взаимодействовать с некоторыми субстратами (в наших исследованиях использован раствор формалина 1%), а также короткоцепочечными жирными кислотами, например, бромалоновой кислотой ( $\text{CHBr}(\text{COOH})_2$ ), как это было показано в классических трудах А.М. Жаботинского [23]. Реакция может тормозиться накоплением ионов церия (IV) и требует его элиминации путем взаимодействия с другими субстратами или образованием оксида. Предположение о возникновении автоколебательных химических процессов с участием ионов церия допускает высвобождение электронов, необходимых для работы электрон транспортной системы внутренней митохондриальной мембраны, и накопления АТФ в клетке.

Предложенные минеральные комплексы для лечения респираторных заболеваний отличаются отсутствием острой токсичности и хорошей переносимостью с редкими нежелательными явлениями в виде необычных ощущений в носу или в горле, а также неинтенсивного кашля с небольшим количеством мокроты, которые по частоте возникновения не отличались от применения 0,9% раствора хлорида натрия, и наблюдались в 3-х случаях из 101, включая практически здоровых лиц, получавших исследуемые формы препарата Ренериум.

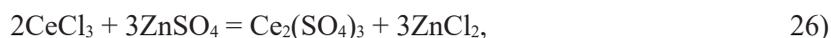
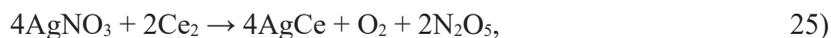
Отдельного обсуждения заслуживает идея технологии искусственного производства препарата Ренериум на основе химически чистых реактивов  $\text{CeCl}_3$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{AgNO}_3$  и  $\text{KMnO}_4$ , в соответствии с формулой природного соединения. Приготовление искусственной смеси указанных химических компонентов имело свои особенности.

1. Большинство компонентов легко смешиваются с 0,9% раствором  $\text{NaCl}$  с образованием про-

зрачного бесцветного раствора без осадка, за исключением  $\text{AgNO}_3$ , который образует белый нерастворимый осадок, превышающий по объему и массе количество внесенного в раствор  $\text{NaCl}$  сухого белого цвета порошка  $\text{AgNO}_3$ . Данный осадок образован  $\text{AgCl}$ . Растворимость данного химического вещества ограничена 0,0018 г/л. Данное обстоятельство учитывали, ограничивая количество ионов  $\text{Ag}^+$  в растворе препарата.

2. Смешивание  $\text{CeCl}_3 + \text{ZnSO}_4$  с раствором  $\text{KMnO}_4$  сопровождается изменением цвета раствора с розового, обусловленного присутствием  $\text{KMnO}_4$ , на черный или темно зеленый с последующим осветлением прозрачной среды с выпадением темного осадка. Раствор данного соединения имеет свойство снова становиться более черным и вновь прозрачно белым с периодами, зависящими от соотношения перечисленных компонентов среды, обычно 12-24 часа, постепенно затухая.

Реакция между указанными химическими веществами и образованием черного осадка может включать такое уравнение:



а также содержать сложнооксидные образцы общего состава  $\text{Ce}_{1-x}\text{Ag}_x\text{O}_{2+\delta}$  [27,55].

Известно, что сульфат серебра образует нестойкое соединение в присутствии кислорода или ионов хлора, что приводит к образования оксида серебра, имеющего черный цвет. Необходимые для реакции двухвалентные ионы церия ( $\text{Ce}^{2+}$ ) являются следствием изменения валентности ионов церия в результате реакции с кислородом в присутствии ионов  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{MnO}^4$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{SO}_4^{2-}$ .

Выпадение черного осадка, а также изменения цвета растворов не наблюдаются в случае использования концентрации  $\text{AgNO}_3$  менее 5 мг/л, и  $\text{KMnO}_4$  менее 50 мг/л, что необходимо учитывать при приготовлении растворов.

Результаты, представленные в обсуждаемых результатах применения отдельных компонентов и комплексного солевого препарата наглядно показывают, что клинический эффект пропорционален количеству компонентов солевого раствора, но попытка максимального соответствия природному соединению не позволяет достигнуть полноценного положительного клинического результата при сопоставимой безопасности и отсутствии серьезных нежелательных реакций. Такой результат в совокупности с цветными химическими реакциями, наблюдаемыми в процессе приготовления растворов солей, позволяют предполагать, что основной механизм биологической

эффективности изучаемого солевого соединения состоит в колебательных окислительно-восстановительных реакциях, индуцируемых в биологических тканях при участии ионов ингалируемых солевых растворов. При этом большое значение имеет соотношение химических элементов в системе. Препарат Ренериум, приготовленный из природного сырья имеет оптимальный состав для достижения максимального клинического эффекта, который отличается стабильностью. Субъективная положительная оценка клинической эффективности нового ингаляционного солевого препарата Ренериум соответствует утверждению, что наличие такого препарата в домашней аптечке надежно защищает человека от внезапных проявлений острой респираторной вирусной инфекции и сохраняет трудоспособность.

## Применение минеральных средств лечения поражений кожи и слизистых оболочек

В предыдущих главах монографии упоминались несколько лекарственных препаратов, имеющих в составе ионы двухвалентных и переменной валентности металлов или их нерастворимые оксиды, для лечения заболеваний кожи и/или слизистых оболочек: перманганат калия, оксид цинка, сульфат и другие соли цинка, сульфодиазин серебра, фламмацериум. Механизмы действия этих препаратов различные.

Многие препараты, содержащие ионы металлов (перманганат-ион  $MnO_4^-$ , и ионы серебра  $Ag^+$ , оксид и сульфат цинка  $Zn^{2+}$ ), оказывают окислительное и денатурирующее действие на белки. Вместе с тем, известно, что ионы цинка обладают более широким спектром действия: уменьшают экспрессию TLR-2 рецепторов, ингибируют NO-синтазу кератиноцитов (iNOS) и предупреждают образование пероксинитрита ( $ONOO^-$ ), угнетают экспрессию молекул межклеточной адгезии и ФНО- $\alpha$  кератиноцитами, уменьшают высвобождение гистамина тучными клетками [80]. Цинк является структурным компонентом многих белков, включая матричные металлопротеиназы (коллагеназа, эластаза, желатиназа и др.), стимулирует экспрессию интегринов  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_3\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_4$  и  $\alpha_v\beta_5$  кератиноцитами кожи и усиливает их миграцию в зону повреждения, стимулируя репарацию. Отмечено, что в силу нерастворимости в воде, оксид цинка оказывает меньшее раздражающее действие на кожу по сравнению с солевыми формами, однако действующим началом обладают именно ионы  $Zn^{2+}$ , которые связываются с кератином эпидермиса. Препараты цинка активно используются в дерматологической практике в системной или местной форме, чаще оказываются эффективными при дефиците цинка в сыворотке крови. Отмечено, что цинк повышает чувствительность микроорганизмов к антибиотикам, в частности снижает резистентность к эритромицину и удачно комбинируется с этим антибиотиком для лечения угревой болезни.

Ионы серебра обладают бактерицидным эффектом, механизм которого обусловлен связыванием с сульфгидрильными, амино-, имидазольными, фосфатными и карбоксильными группами белков, что нарушает работу ферментов клеточных мембран и приводит к потере клетками протонов с последующей гибелью клетки [145]. Сульфодиазин серебра представляет собой комбинацию двух противомикробных субстанций, проявляющих или комбинированное, либо потенцирующее действие: бактерицидный эффект ионов серебра и бактериостатическое действие сульфониламида в результате блокады параамино бензойной кислоты, необходимой для синтеза фолиевой кислоты микроорганизмами.

Однако не все клинические сравнительные исследования показали преимущество сульфодиазина серебра по сравнению с другими методами и средствами лечения неглубоких кожных ран. Сравнительное контролируемое исследование не выявило преимущества данного препарата по отношению к комбинированному препарату гидратированных альгинатных полимеров с биологической ферментной системой на основе глюкозооксидазы и лактопероксидазы, стабилизированному гваяколом [140].

Фламмацериум, препарат сульфодиазина серебра и нитрата церия, стал препаратом выбора многих медицинских учреждений по лечению кожных ран благодаря способности снижать активность воспаления при ожогах, предупреждать бактериальную раневую инфекцию, обеспечивать формирование плотного струпа для последующей обработки кожной раны [107].

Ранние исследования эффективности комбинированного применения нитрата церия и сульфодиазина серебра у больных с глубокими кожными ранами показали уменьшение количества смен повязок, улучшение комфорта пациента и снижение бактериальной нагрузки [142]. Напротив, сравнительное исследование сульфодиазина серебра и его комбинации с нитратом церия при ожогах лица, в котором приняло участие 179 человек, не подтвердило преимущество комбинированного препарата [134]. Тем не менее, в случае тяжелой ожоговой болезни сравнительное исследование с участием 60 больных (по 30 в каждой группе сравнительного наблюдения), продемонстрировало убедительное преимущество комбинации сульфодиазина серебра с нитратом церия по сравнению с сульфодиазином серебра [108]. Скорость эпителизации ожогов была выше на 8 дней в группе комбинированного препарата. Относительно сухой панцирный струп ожога, обработанного комбинацией с нитратом церия, позволил провести плановое иссечение с немедленной ауто-трансплантацией, а ткань под ним была готова к трансплантации на 11 дней раньше, чем в группе контроля ( $p = 0,03$ ). Это привело к значительно более короткому пребыванию в стационаре паци-

ентов из опытной группы наблюдения, чем в группе контроля (23,3 против 30,7 дней;  $p = 0,03$ ) с последующей экономией средств.

Представленные данные не позволяют сделать однозначного вывода о необходимости включения препарата, содержащего ионы церия, в план лечения больных различными повреждениями кожи по причине различных критериев включения и исключения в каждом исследовании. Предположительно эффективность комбинированного препарата, содержащего ионы металла переменной валентности, была выше в группах больных с более тяжелым поражением [124].

Теоретическим базисом эффективности препаратов церия при кожных повреждениях являются данные экспериментальных исследований, где была выявлена способность хлорида церия ( $CeCl_3$ ) стимулировать клеточную миграцию и экспрессию генов циклинов B1, D1 и E1 фибробластов кожи лба человека [138].

## **Результаты клинической апробации препарата Ренериум для лечения повреждений кожных покровов**

Цель исследования состояла в изучении регенераторной активности препарата Ренериум в лечении послеоперационных швов при абдоминальных операциях.

Состав средства гигиены кожи Ренериум был модифицирован путем добавления гидрокарбоната натрия для нормализации pH 7,5-8,0, а также глицерина в количестве 8,6 гр. на 1 литр.

Клинический материал составили 6 пациентов – добровольцев, перенесших срединную лапаротомию по поводу различных заболеваний: перфоративной язвы луковицы ДПК (1 пациент), проникающего колото-резанного ранения живота (1 пациент), хронического калькулезного холецистита (1 пациент), спаечной кишечной непроходимости (2 пациента), закрытия функционирующей колостомы (1 пациент).

Возраст пациентов от 17 до 69 лет, м 2, ж 4. Пациентам проводились перевязки лапаротомной раны, разделенной на две половины. В верхней половине раны накладывалась традиционная повязка с полуспиртовым раствором Хлоргексидина, в нижней части – повязка с раствором препарата Ренериум по 5 миллилитров 1 раз в день от 5 до 10 дней.

Применяли сравнительный, параллельный, рандомизированный, ослепленный дизайн клинического исследования.

Контрольная группа состояла из практически здоровых лиц в возрасте 19-61 лет, м 5, ж 16, которым препарат Ренериум наносили на здоровые кожные покровы аналогичным образом в форме аппликаций марлевой повязки в течение 20 минут ежедневно в течение 5 дней.

Критерии включения в основную группу наблюдения соответствовали наличию лапаротомии и подписанию добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии не включения: тяжелое течение заболевания с полиорганной недостаточностью,

пессимистичный прогноз для жизни, клинические симптомы кахексии, психических или поведенческих нарушений, алкогольной или наркотической зависимости, нарушений сердечного ритма, хроническая болезнь почек, сахарный диабет, заболевания центральной нервной системы, эндокринных желез, иммунодефицитные состояния, когнитивные нарушения, наличие другой клинически значимой соматической патологии или мотивированный отказ от участия в исследовании, а также детский или старческий возраст.

Оценивали состояние раны по критериям ASEPSIS (табл. 15) [152].

Таблица 15. Шкала ASEPSIS

Характеристика раны	Участок раны, вовлеченный в воспаление (%)				
	< 20	20-39	40-59	60-79	> 80
серозные выделения	1	2	3	4	5
эритема	1	2	3	4	5
гнойные выделения	2	4	6	8	10
расхождение глубоких слоев раны	2	4	6	8	10
Дополнительные баллы					
антибиотикотерапия	10				
дополнительное рассечение или дренирование	5				
хирургическая обработка	10				
лабораторное подтверждение путем выделения бактерий	10				
госпитализация более 14 дней	5				
необходимость в амбулаторном лечении	5				
Интерпретация результатов					
Общее количество баллов	Категория заживления раны				
0 - 10	удовлетворительное заживление				
11 - 20	нарушенное заживление				
21 - 30	минимальное инфицирование				
31 - 40	умеренное инфицирование				
> 40	тяжелая раневая инфекция				

Отдельно оценивались два участка раны, пролеченный традиционными повязками и повязками с препаратом Ренериум.

Медиана наблюдения за пациентами составила 6 дней. При этом один пациент с лапаротомией по поводу проникающего колото-резанного ранения наблюдался в течение 10 суток.

### Методика клинической апробации

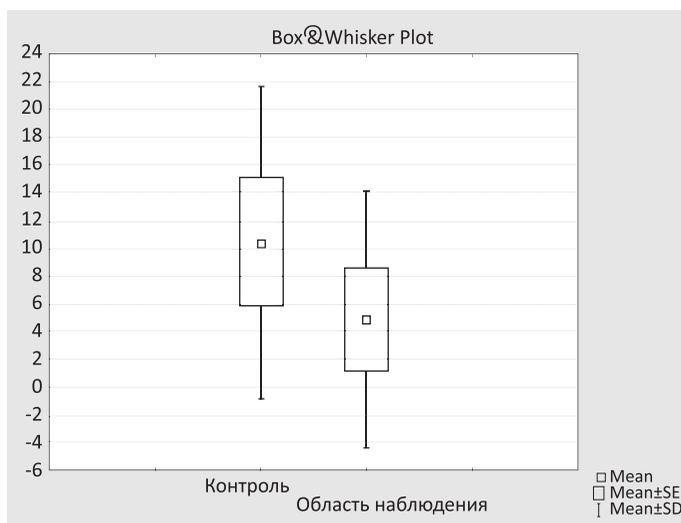
Ежедневно пациентам проводилась перевязка лапаротомной раны. Рана обрабатывалась спиртом после снятия повязок. С разрешения пациента проводилась фотосъемка раны после снятия повязок. Далее лапаротомная рана условно делилась на две части. Верхняя часть раны считалась раной сравнения, на нее накладывалась салфетка, смоченная полуспиртовым раствором хлоргексидина. Нижняя часть – рана наблюдения, на которую накладывалась стерильная салфетка, смоченная раствором Ренериум. Каждая часть раны ежедневно оценивалась при помощи шкалы ASEPSIS в баллах. Баллы суммировались в момент окончания наблюдения за пациентом и выписки его из хирургического стационара.

### Результаты лечения послеоперационных ран

Сумма баллов шкалы ASEPSIS участка раны сравнения составила 63,15, в области применения препарата Ренериум – 29,3. Средняя величина балльной оценки составила 10,5±11,27 и 4,9±9,27, соответственно. В 3 случаях клинических различий не получено, т.к. осложнений течения послеоперационного периода заживления операционной раны не было, сумма баллов контрольной и опытной части послеоперационного шва соответствовала минимальной оценке в 1 балл по шкале ASEPSIS. В трех других случаях отчетливо выявлено преимущество препарата Ренериум, где у 2-х пациентов не сформировалось осложнений, и балльная оценка соответствовала 1 баллу, а в последнем случае при наличии гематомы в области операционной раны балльная оценка опытной ее части оказалась ниже, чем в контроле. По средней оценке суммы баллов в опытной и контрольной частях ран различия были достоверными по критерию Вилкоксона ( $p < 0,05$ ), и установлено двухкратное преимущество нового препарата Ренериум в скорости заживления ран, в том числе за счет предупреждения развития осложнений (серома, гематома). 5

На рис. 37 представлено графическое сравнение результатов двух методов лечения.

Рис. 37. Сравнительная характеристика эффективности препарата Ренериум для лечения послеоперационных ран



**Положительные результаты апробации демонстрируются двумя клиническими примерами.**

*Клинический пример лечения послеоперационной раны № 1*

Пациент Г., 48 лет, поступил с ножевым проникающим ранением передней брюшной стенки. Проведена ревизия раны, выполнена срединная верхняя лапаротомия, послойное ушивание раны, вертикальный шов – спиртовая повязка, горизонтальная часть послеоперационного шва (область проникающего ножевого ранения) – повязка с препаратом Ренериум. Результат – ускоренное заживление нижней части послеоперационного шва раны под влиянием препарата Ренериум, формирование серомы в области вертикального шва в контроле (рис. 38).

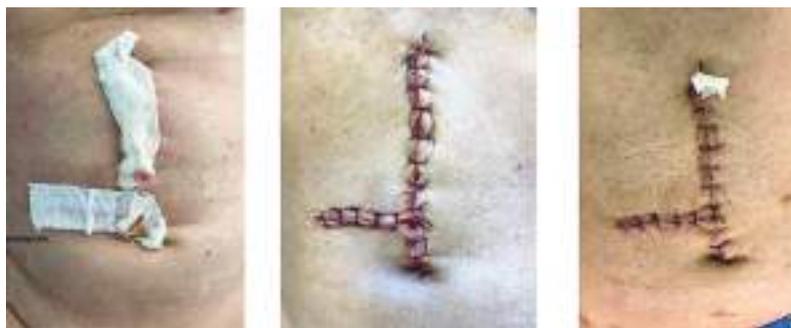


Рис. 38. Динамика послеоперационного состояния шва передней брюшной стенки под влиянием препарата Ренериум и традиционной повязки со спиртовым раствором Хлоргексидина. Пациент Г.

*Клинический пример лечения послеоперационной раны № 2*

Пациентка П., 62 лет, оперирована по поводу спаечной болезни брюшной полости, заворота подвздошной, слепой и правой половины ободочной кишки на 360° с формированием острой странгуляционной толсто-тонкокишечной непроходимости. Проведена срединная лапаротомия, рассечение спаек; деторсия заворота тонкой и ободочной кишки. Дренирование брюшной полости, послойное ушивание раны, верхняя часть послеоперационного шва – спиртовая повязка, нижняя – повязка с Ренериум. Результат – ускоренное заживление нижней части послеоперационной раны под влиянием препарата Ренериум (рис. 39).



Рис. 39. Динамика послеоперационного состояния шва передней брюшной стенки под влиянием препарата Ренериум и традиционной повязки со спиртовым раствором Хлоргексидина. Пациент П.

Таким образом, получены положительные результаты клинической апробации препарата Ренериум для кожного применения с целью ускорения заживления послеоперационных ран, позволяющие предупредить развитие осложнений и сократить сроки выздоровления пациента.

### **Обсуждение результатов клинической апробации препарата Ренериум для лечения повреждений кожных покровов**

Применение ионных форм церия для лечения повреждений кожных покровов является наиболее частой клинической задачей, описанной в научных публикациях последних лет. Для этих целей успешно применяется зарегистрированный во многих странах препарат Фламмацериум, содержащий 1% раствор сульфодиазина серебра и нитрат церия. В научных исследованиях предпринимались попытки создать препараты на основе наночастиц оксида церия (IV), но различные научные коллективы используют различные методы получения наночастиц, изменяющие их конечные физико-химические свойства, и клинические исследования созданных на такой основе препаратов в научной литературе не представлены.

Нами предпринимались попытки применить комплекс ионов металлов переменной валентности, включая ионы церия, марганца, цинка и серебра. Положительные результаты были получены при увеличении концентрации ионов церия до 1 мкг/л., включении в состав препарата сульфата магния и глицерина. Модифицированный препарат показал хорошую регенераторную активность в доклинических исследованиях на экспериментальных животных (крысах) в модели плоскостной кожной раны, а также в небольшом наблюдательном исследовании на добровольцах, оперированных на органах брюшной полости. Препарат ускорял заживление ран практически в 2 раза. Нежелательных явлений в наших наблюдениях не было.

Вместе с тем, необходимость небольшого изменения состава препарата для достижения клинического эффекта, увеличение концентрации ионов церия, добавка сульфата магния и глицерина могут свидетельствовать, что механизм действия препарата для регенерации кожных покровов отличается от механизма препарата для лечения заболеваний слизистых оболочек. Существенным отличием кожных покровов является отсутствие муцинов, которые могут принимать участие во взаимодействии с ионами церия в качестве субстрата окислительно-восстановительной реакции. С одной стороны, результаты гистологических исследований кожного лоскута в опытном исследовании с участием лабораторных животных (модель плоскостной кожной раны), регенерирующего под влиянием препарата Ренериум, не выявили выраженного противовоспалительного эффекта, проявляющегося в изменении инфильтрации тканей лейкоцитами и снижением экссудации. С другой стороны, регенераторная активность эпителия и фибробластов была выше, чем у кон-

трольных животных. Клиническое преимущество в скорости заживления ран группы волонтеров, получавших лечение после полостных операций на органах брюшной полости, определялось отсутствием осложнений в виде формирования серомы, или гематомы, что указывает на ограничение воспалительной экссудации. Такой эффект можно ожидать при подавлении процессов пероксидации, сопровождаемых изменением валентности иона церия (III) на 4-х валентного состояния, с последующим взаимодействием с ионами магния в качестве восстановителя и восстановлением ионов церия (IV) до 3-х валентного. Нельзя исключить конкуренцию ионов магния и церия с ионами кальция, участвующими в реакциях воспаления, на уровне мембранных каналов. Увеличение концентрации ионов церия в 2 раза по сравнению с ингаляционной формой препарата может также указывать на два механизма, один из которых связан с участием в процессах накопления АТФ, другой – с изменением активности мембранных ионных каналов и функции мембранных рецепторов.

В целом апробация нового ионного препарата показала перспективы продолжения исследований с целью оценки безопасности и эффективного клинического применения при широком спектре поражений и заболеваний кожных покровов и слизистых оболочек у человека, включая лечение послеоперационных ран.

## Заключение. Перспективы научных исследований

Биологические эффекты и биологическая значимость металлов переменной валентности остаются малоизученной и перспективной темой научных исследований. На основании проанализированной научной литературы можно говорить о преимущественном участии ионов церия в окислительно-восстановительных реакциях, лежащих в основе функционирования клеточных мембран, процессов накопления энергии в митохондриях, механизмах репликации и репарации ДНК. Отдельная область, в которую врачи пытаются вмешиваться регулярно, составляют процессы воспаления, как защитно-восстановительной, с одной стороны, и реакции повреждения, с другой.

Металлы переменной валентности характеризуются различными энергетическими состояниями, а также переходами между этими состояниями, что сопровождается либо потреблением электронов, либо их эмиссией. Наиболее выраженные свойства переменной валентности проявляют редкоземельные металлы группы лантана. Церий имеет атомную массу 140,12 а.е., 6 слоев электронной оболочки, из которых незаполненными являются внешний, а также d- и f-подуровни 5-го слоя. Такое строение атома объясняет его способность, как к эмиссии внешних электронов, так и акцепции дополнительных электронов на незаполненные подуровни 5-го слоя. В результате наиболее распространенными валентностями иона церия являются +2, +3, +4. Изменение валентности ионов церия наблюдается в присутствии ионов хлора, сульфат-аниона, других металлов переменной и/или двухвалентной активности, зависит от pH среды и температуры [16].

В отношении биологических объектов металлы переменной валентности могут проявлять как токсические, так и пролиферативные свойства. Данные эффекты зависят от дозы, способа введения препарата и состава с учетом присутствия других химических элементов. Согласно данным научной литературы, токсические эффекты церия проявляются в дозах выше 100 мкг/л. Предло-

жены различные лекарственные препараты, содержащие ионы церия и его соединения, (фламмацериум и др.), разрешенные к применению в отдельных странах, или представленные к клиническим испытаниям [103]. Среди основных биологических эффектов отмечают противовоспалительные свойства, стимуляцию роста эпителиальных тканей, фибробластов, антиокислительный потенциал, формирование трансмембранного потенциала и регуляцию функции мембранных рецепторов.

Нами впервые был предложен ингаляционный препарат на основе природного сырья Ренериум для лечения и реабилитации больных острыми респираторными заболеваниями [53]. Основными минеральными компонентами препарата являются ионы церия, марганца, цинка и серебра. Доза ионов церия составляет 0,35-0,5 мкг/л, что приблизительно в 200 раз ниже токсической. Препарат изготовлен на основе 0,9% раствора NaCl. Предложено применение препарата в виде ингаляций по 5,0 мл 1 раз в день через компрессорный ингалятор и виде назального спрея в дозе 5-10 мл в сутки.

Экспериментальные исследования подтвердили активное участие ионов церия в окислительно-восстановительных реакциях, причем ионы  $Ce^{3+}$  характеризуются восстановительным потенциалом, и имеют большее теоретическое обоснование к клиническому применению при воспалительных процессах по отношению к ионам  $Ce^{4+}$ . Эти данные в определенной мере соответствуют тому обстоятельству, что наряду с изучением свойств как ионов  $Ce^{3+}$ , так и  $Ce^{4+}$ , в настоящее время зарегистрирован только один препарат для лечения кожных ран Фламмацериум, содержащий 1% раствор сульфодиазина серебра и нитрат церия [124].

Токсикологические исследования нового препарата Ренериум были проведены в сертифицированном центре по доклиническим испытаниям в ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России. При этом острой токсичности не установлено. Ингаляционное введение препарата в дозе, в 20 раз превышающей терапевтическую, не сопровождалось накоплением препарата во внутренней среде организма. В эксперименте на крысах установлена выраженная эффективность препарата Ренериум по противовоспалительной активности и восстановлению структуры эпителиального слоя бронхов, бронхиол и альвеол после повреждения, вызванного ингаляцией 1% раствора формалина. Аналогично оценка эффективности нового препарата по заживлению кожных ран в модели плоскостной кожной раны у крыс продемонстрировала превосходство нового препарата по отношению к повязкам с 0,9% раствором хлорида натрия – ускорение заживления раны за счет эпителизации, активной миграции клеток защитной и регенераторной активности, стимуляции развития элементов соединительной ткани и новообразованных сосудов.

Клиническая апробация методов применения препарата ингаляционно или в форме назального спрея продемонстрировала существенное уменьшение симптомов острого респираторного заболевания в различных группах больных, включая случаи острой вирусной инфекции, внебольничной пневмонии, бронхиальной астмы, ХОБЛ и обострения хронического деформирующего бронхита, сопровождающегося образованием бронхоэктазов. Не обладая противовирусной или антибактериальной активностью, препарат надежно защищает слизистые оболочки и предупреждает или ликвидирует клинические проявления воспалительных процессов за счет регуляции окислительно-восстановительных реакций.

Получены предварительные результаты клинической апробации нового препарата Ренериум в отношении ускорения заживления послеоперационных ран, в том числе за счет предупреждения развития осложнений.

Перспективы дальнейшего исследования состоят в уточнении влияния окислительно-восстановительных реакций с участием компонентов препарата Ренериум на энергетические процессы высвобождения и захвата электронов, стимуляции накопления АТФ в митохондриях клеток, влияния на процессы репликации отдельных генов, включая ответственные локусы за продукцию провоспалительных цитокинов и других регуляторных белков, а также дефензинов и других противомикробных пептидов. Проверке подлежит гипотеза о конкуренции ионов металлов за металлотранспортные системы клеточной мембраны и возможности блокады медленных кальциевых каналов. Сопряженной проблемой становится регуляция сократительной и синтетической функции различных клеток и тканей организма, прежде всего, слизистых оболочек и кожи. С клинической точки зрения предстоит проведение полноценных клинических испытаний и апробация новых форм препарата для других задач медицинской практики.

## Список литературы

1. Аналитическая химия. Справочные материалы: Учебно-методическое пособие по дисциплинам «Аналитическая химия» и «Аналитическая химия и физико-химические методы анализа» для студентов химико-технологических специальностей. Сост. А.Е. Соколовский, Е.В. Радион; под общ. ред. Е.В. Радион. Мн., БГТУ, 2005. 80 с.
2. Аронов Д.М., Лупанов В.П. Антагонисты кальция в лечении больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Фокус на амлодипин. РМЖ. 2007, 15; 4: 275-281.
3. Баховадинов Б.Б., Барышев Б.А. Кровезаменители. Компоненты крови. Посттрансфузионные реакции и осложнения. Справочник. 2017. 288 с. <http://www.transfusion.ru/2019/04-01-2.pdf>.
4. Беловолова Л.В. Активные формы кислорода в водных средах (обзор). Оптика и спектроскопия. 2020, 128; 7: 923-942.
5. Биохимия: Учебник. Под ред. Е.С. Северина.- 2-е изд. испр. М., ГЭОТАР-Мед. 2004. 784 с.
6. Биохимия: учебник. 5-е изд. перераб. и доп. Под ред. Е.С. Северина. ГЭОТАР-Медиа. 2020. 768 с.
7. Большаков И.А., Выгодина Т.В., Геннис Р., Карякин А.А., Константинов А.А. Определение каталазной активности цитохром с оксидазы с помощью электродного микросенсора на перекись водорода. Биохимия. 2010, 75; 11: 1533-1543.
8. Броздова Т.В. Основы статистического анализа и обработка данных с применением Microsoft Excel, учебное пособие. Минск, ГИУСТ БГУ. 2011. 40 с.
9. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Материалы и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., «Высшая школа». 1991. 397 с.
10. Ванин А.Ф., Бородулин Р.Р., Кубрина Л.Н., Микоян В.Д., Бурбаев Д.Ш. Физико-химия динитрозольных комплексов железа с природными тиолсодержащими лигандами, определяющая биологическую активность этих комплексов. БИОФИЗИКА, 2013, 58; 1: 126–136.
11. Васин В.И. Механизмы и оценка эффективности заживления острых кожных ран при использовании наружных и инвазивных лекарственных средств. Автореф. дисс....канд. мед наук. М. 2021.
12. Временные клинические рекомендации: профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (Covid-19). Версия 15 (22.02.2022).
13. Временные методические рекомендации: Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (Covid-19). Версия 2 (31.07.2020).
14. Газизова И.Р. Коррекция митохондриальной дисфункции как основа нейропротекции при глаукоме. Офтальмологические ведомости. 2011. 4; 4: 63-69.
15. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., Медицина. 1974. 143 с.
16. Гайдукова А.М. Извлечение металлов переменной валентности из водных растворов с использованием электрохимических и физических методов. Автореф.канд. техн. наук. М. 2016. 18 с.

17. Глазкова М.О. Оценка активности каталазы в плазме крови людей в норме и при окислительном стрессе. Экология южной Сибири и сопредельных территорий. В 2 кн.; 2. 2015. Абакан, Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова: 83-84.
18. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер.с англ. Данилова Ю.А. М., Практика. 1998. 459 с.
19. Раствор сульфата церия (IV) 0,1 mol/l - 0,1 N, стандартный раствор. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-P719-RU-RU.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMzQ4NTV8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYTQvaGFmLzkwNTY5NTUxMzgwNzducGRmfGQ3ZDQwMThlZWVhM2MyNGY3OGNmMTRhOGNkZmI1N2U5MmYzYzNIN2MxNTg3OWUzYTk1ZWE3MjEхOGM3MjVkJkZWE>.
20. ГОСТ 33215-2014. Межгосударственных стандарт. Руководства по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. Дата введения 2016-07-01. <https://docs.cntd.ru/document/1200127789>.
21. Дворецкий Л.И. Лечение железодефицитной анемии. РМЖ. 1998; 20: 3.
22. Дементьева Т.А. Активность каталазы в митохондриях различных органов свиней. Успехи современного естествознания. 2003; 10. С. 22-23.
23. Динамические модели в биологии. Реакция Белоусова-Жаботинского. Пространственно-временная самоорганизация биологических систем. Кафедра биофизики МГУ. <http://www.dmb.biophys.msu.ru/registry?article=55>.
24. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.
25. Доклинические исследования лекарственных средств: учебное пособие А.В. Бузлама (и др.). Под ред. А.А. Свистунова. М., ГЭОТАР-Медиа. 2017. 384 с.
26. Завьялов В.И., Терехова Н.Н. Феномен «трехслойной технологии» (высокие технологии в средневековье). Исторический формат. 2015; 4: 21-32.
27. Зыкова А.В., Кузнецова О.Г., Русских О.В., Остроушко А.А. Получение и изучение свойств оксида церия допированного серебром. Проблемы теоретической и экспериментальной химии: тез. докл. Екатеринбург, Издательство Уральского университета. 2011: 303-304.
28. Иваницкий Г.Р., Кринский В.И., Сельков Е.Е. Математическая биофизика клетки. М., Наука. 1978. 308 с.
29. Иванов В.В., Олефиренко В.Т. Железистые воды. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ), под редакцией Петровского Б.В., 3-е издание. 1989; 8.
30. Иванов В.К., Щербаков А.Б., Жолобак Н.М., Иванова О.С. Необычные свойства диоксида церия. Природа. 2011; 3: 47-57.
31. Иванов В.К., Щербаков А.Б., Баранчиков А.Е., Козик В.В. Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение. Томск, Издательство Томского университета. 2013. 284 с.
32. Иванов В.К. Функциональные наноматериалы на основе диоксидов церия и элементов под-

- группы титана: синтез, исследование структуры и размерных эффектов. - Автореф. Дис... док-ра хим. наук. М., 2011. - 48 с. Доступно 21.09.2020. [http://www.oxide.ru/sites/default/files/thesis/IvanovVK\\_0.pdf](http://www.oxide.ru/sites/default/files/thesis/IvanovVK_0.pdf).
33. Интеркаляционное связывание. Википедия: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Интеркаляция\\_\(химия\)](https://ru.wikipedia.org/wiki/Интеркаляция_(химия))).
  34. Кальция глюконат стабилизированный. Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства. Утверждена Приказом Председателя Комитет контроля медицинской и фармацевтической деятельности Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «22» февраля 2017 г. № N006904, № N006905; [https://farmak.kz/wp-content/uploads/2019/06/kalctziya-glyukonat-stabilizirovannyj-rastvor\\_imp\\_rus.pdf](https://farmak.kz/wp-content/uploads/2019/06/kalctziya-glyukonat-stabilizirovannyj-rastvor_imp_rus.pdf).
  35. Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Воробьева В.В., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н. Изучение специфической фармакологической активности комплекса гликозилированных полипептидов, выделенного из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis* на модели острого бронхита, индуцированного формалином у крыс. *Биофармацевтический журнал*. 2016, 8; 6: 56-63.
  36. Клинические рекомендации Артериальная гипертензия у взрослых. Российское кардиологическое общество. 2020: 35.
  37. Клинические рекомендации «Желудочковые аритмии». Министерство здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ, Центр хирургической и интервенционной аритмологии. 2017.
  38. Клинические рекомендации. Наджелудочковые тахикардии. Всероссийское научное общество специалистов по клинической электрофизиологии, аритмологии и кардиостимуляции, Ассоциация сердечно-сосудистых хирургов России. 2020.
  39. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. 4-е изд. М., БИНОМ. Лаборатория знаний. 2012. 469 с.
  40. Ксионжик Я. Терапия острых кишечных инфекций у детей. Какой раствор для пероральной регидратации выбрать? *РМЖ*. 2003; 20: 1117. [https://www.rmj.ru/articles/pediatriya/Terapiya\\_ostryh\\_kishechnyh\\_infekciy\\_u\\_detey\\_Kakoy\\_rastvor\\_dlya\\_peroralynoy\\_regidratacii\\_vybraty/#ixzz86ZJ0Jreq](https://www.rmj.ru/articles/pediatriya/Terapiya_ostryh_kishechnyh_infekciy_u_detey_Kakoy_rastvor_dlya_peroralynoy_regidratacii_vybraty/#ixzz86ZJ0Jreq).
  41. Лебедев В.В., Демихов В.Г., Дмитриев А.В., Аиари М., Фомина М.А. Сравнительная эффективность и безопасность применения препаратов двух- и трехвалентного железа для лечения железодефицитной анемии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2016, 15; 4: 5-12.
  42. Лебедева Е.Н., Красиков С.И. Металлы с переменной валентностью и адипокиновая регуляция. *Интеллект инновации, инвестиции*. 2011; 4: 246-252.
  43. Лидер Е.В. Аналитическая химия. Неорганическая и аналитическая химия для студентов 1-го курса направления «Лечебное дело» Института медицины и психологии В. Зельмана» НГУ. 2020.
  44. Липатов В.А., Лазаренко С.В., Северинов Д.А. Оценка влияния гемостатических материалов на концентрацию кальция крови. *Research'n Practical Medicine Journal*. 2021; 2. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-vliyaniya-gemostaticheskikh-materialov-na-kontsentratsiyu-kaltsiya-krovi> (дата обращения: 28.02.2023).

45. Магния сульфат. Описание препарата. Видаль.: [https://www.vidal.ru/drugs/magnesium\\_sulfate\\_\\_34103](https://www.vidal.ru/drugs/magnesium_sulfate__34103).
46. Мельникова Н.Н., Ермишев О.В. Влияние хлорида церия на биохимические показатели крови, функциональную активность и микроструктуру почек крыс. Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2014; 2: 25-35. <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-hlorida-tseziya-na-biohimicheskie-pokazateli-krovi-funktsionalnuyu-aktivnost-i-mikrostrukturu-pochek-krys>. Дата обращения: 24.03.2023.
47. Мишланов В.Ю., Зувев А.Л., Мишланов Я.В. Концепция реабилитации больных, перенесших инфекцию Covid-19, путем ингаляционной терапии с применением природного минерального комплекса месторождений Пермского края в составе солей церия, марганца, цинка и серебра и разработка принципов мониторинга пациентов с применением системы интерактивных опросов. Грант РФФИ 20-415-596008 р\_НОЦ\_Пермский край. Отчет за 2022 год. [https://www.rfbr.ru/rffi/ru/rffi\\_contest\\_results/o\\_2114560](https://www.rfbr.ru/rffi/ru/rffi_contest_results/o_2114560).
48. Морозова Л.В. Химические элементы в организме человека. Справочные материалы. Под ред. Л.В. Морозовой. Архангельск, Изд-во Поморского гос. ун-та им. М.В. Ломоносова. 2001. 44 с.
49. Окислительно-восстановительное титрование: учеб.-метод. пособие. Сост. А.Л. Подкорытов, Л.К. Неудачина, С.А. Штин. Екатеринбург, Изд-во Урал. ун-та, 2015. 64 с.
50. Окислительно-восстановительные реакции: учеб. пособие. В.Я. Аджемян, В.С. Падалкина, А.П. Андреев, С.С. Воевода. М, Академия ГПС МЧС России. 2011. 108 с.
51. Основы аналитической химии: учеб. для вузов: в 2 кн. Ю.А. Золотов, Е.Н. Дорохова, В.И. Фадеева и др. Под ред. Ю.А. Золотова. 2-е изд. М., Высш. шк. 2008.
52. Патент РФ на изобретение № RU2642972C1 от 29.01.2018. «Способ коррекции митохондриальной дисфункции с помощью генетической конструкции». Авторы: Левицкий С.А., Самойлова Е.О., Крашенинников И.А., Каменский П.А.
53. Патент РФ на изобретение № 2766246 от 10.02.2022. «Способ лечения и реабилитации больных после острых респираторных вирусных инфекций». Автор: Мишланов В.Ю.
54. Поздняков Д.И. Коррекция митохондриальной дисфункции коричневыми кислотами при экспериментальной гиперцитокинемии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022; 3: 361-364. <https://cyberleninka.ru/article/n/korreksiya-mitohondrialnoy-disfunktsii-korichnymi-kislotami-pri-eksperimentalnoy-gipertsitokinemii>. Дата обращения: 19.07.2023.
55. Порсин А.В., Аликин Е.А, Даниченко Н.М. и др. Катализ в промышленности. 2007; 6: 39-45.
56. Порядина Г.В. Патофизиология системы гемостаза. Методические разработки для самостоятельной работы студентов лечебного и педиатрического факультетов. М, РГМУ. 2013. 39 с.
57. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. ГН 2.1.5.1315-03, утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 27 апреля 2003 года.

58. Проблемы нормы в токсикологии. Под ред. проф. И.М. Трахтенберга. М., Медицина. 1991. 203 с.
59. Регистр лекарственных средств России. Калия перманганат. <https://www.rlsnet.ru/drugs/kaliya-permanganat-4334>.
60. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М., Медицина. 2005. 832 с.
61. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. М., Гриф и К. 2012. 944 с.
62. Руководство по работе с лабораторными животными для сотрудников РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, занятых проведением доклинических испытаний. М., ГБОУ ВПО РГМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. 2015. 42 с.
63. Русских О.В., Тонкушина М.О., Гржегоржевский К.В. Влияние допирующих ионов на каталитическую активность оксида церия в реакциях окисления углеродсодержащих веществ. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=10348> (дата обращения: 28.02.2023).
64. Рябоконт А.М., Захарова Н.В., Индейкина М.И., Кононихин А.С., Шогенова Л.В., Медведев О.С., Костинов М.П., Свитич О.А., Kunio Ibaraki, Hiroki Maehara, Николаев Е.Н., Варфоломеев С.Д., Чучалин А.Г. Изменение протеома конденсата выдыхаемого воздуха под влиянием ингаляционного водорода у пациентов с постковидным синдромом. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023, 22; 3:3517. doi:10.15829/1728-8800-2023-3517. EDN RKFRJK.
65. Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Борисов А.Г. Методы оценки и роль респираторного взрыва в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний // Инфекция и иммунитет. 2017, 7; 4: 327-340.
66. Салихов И.Г., Агишева К.Н. Перекисное окисление липидов и его значение в патологии внутренних органов. Казанский медицинский журнал. 1986, 67; 3: 200-203.
67. Санитарно-эпидемиологические правила СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51.
68. СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения». Утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 7 апреля 2009 г. № 20.
69. СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания», утвержденных Постановлением Главного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 2.
70. Свитич О.А., Баранова И.А., Крюкова Н.О., Поддубиков А.В., Винницкая А.Б., Абрамова Н.Д., Захарова В.В., Шогенова Л.В., Костинов М.П., Чучалин А.Г. Влияние водорода на механизмы мукозального иммунитета у пациентов, перенесших заболевание COVID-19. Терапев-

- тический архив. 2022, 94; 3:372–377. DOI: 10.26442/00403660.2022.03.201398.
71. Статьи о Новгороде. Novgorod.ru. <https://www.novgorod.ru/read/information/history/clauses/borai1/borai2/>.
72. Терешин А.Е., Кирьянова В.В., Решетник Д.А. Коррекция митохондриальной дисфункции в комплексной реабилитации пациентов, перенесших COVID-19. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2021,121; 8: 25-29.
73. Торосян В.Ф. Неорганическая химия. Задания для самостоятельной работы студентов заочной формы обучения. Юрга, Изд-во Юргинского технологического института (филиала) Томского политехнического университета. 2012. 39 с.
74. Тыжигирова В.В. Химия d-элементов и их соединений: учебное пособие. Иркутск, ИГМУ. 2019. 65 с.
75. Федеральные клинические рекомендации «Диагностика и лечение вторичной перегрузки железом». Национальное гематологическое общество. М. 2014.
76. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных себорейным дерматитом. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. М. 2015. 15 с.
77. Фрелих Г.А., Полommeва Н.Ю., Васильев А.С., Удут В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий. Сибирский медицинский журнал. 2013, 28; 3: 7-13.
78. Функциональная гастроэнтерология. Магния оксид. <https://www.gastroscan.ru/handbook/144/5982>.
79. Хисматуллина З.Н. Сущность, направление и роль окислительно-восстановительных реакций в биологии и медицине. Вестник Казанского технологического университета. 2011; 19: 35-41. <https://cyberleninka.ru/article/n/suschnost-napravlenie-i-rol-okislitelno-voosstanovitelnyh-reaktsiy-v-biologii-i-medicine>. Дата обращения: 19.02.2023.
80. Хлебникова А.Н., Петрунин Д.Д. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии. Вестник дерматологии и венерологии. 2013; 6: 100-116.
81. Цибилова Е.Ю. Нормативные диагностические показатели плазменного железа у беременных в условиях Самарского региона. Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2014; 3: 15. <https://cyberleninka.ru/article/n/normativnye-diagnosticheskie-pokazateli-plazmennogo-zheleza-u-beremennyh-v-usloviyah-samarskogo-regiona>. Дата обращения: 05.08.2023.
82. Цинка сульфат (ZINC SULFATE). Описание <https://www.vidal.ru/drugs/molecule/1126>.
83. Цинка сульфат-диа 0,25% 10мл капли глазные флакон–капельница. Инструкция к препарату. [https://www.asna.ru/cards/tsinka\\_sulfat-dia\\_025\\_10ml\\_kapli\\_glaznye\\_fl-kapelnitsa\\_diafarm.html?utm\\_referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.ru%2F](https://www.asna.ru/cards/tsinka_sulfat-dia_025_10ml_kapli_glaznye_fl-kapelnitsa_diafarm.html?utm_referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.ru%2F).
84. Чучалин А.Г. Роль оксида азота в современной клинической практике: научный доклад на V Всероссийском конгрессе. Легочная гипертензия. (13 декабря 2017 г.). Пульмонология. 2018, 28; 4: 503–511. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-4-503-511.
85. Шкваров А. Россия – Швеция. История военных конфликтов. 1142-1809 годы. М., Изд-во Алетей; RME Group Oy. 2012 г. [112](https://libking.ru/books/nonf/nonf-publicism/581061-aleksey-</a></p></div><div data-bbox=)

- shkvarov-rossiya-shvetsiya-istoriya-voennyh-konfliktov-1142-1809-gody.html.
86. Щербаков А.Б., Корчак Г.И., Сурмашева Е.В., Скороход И.М., Михиенкова А.И. Препараты серебра: вчера, сегодня, завтра. *Фармацевтический журнал*. 2006; 5: 45-57.
  87. Шогенова Л.В., Чыонг Тхи Туэт, Крюкова Н.О., Юсупходжаева К.А., Позднякова Д.Д., Ким Т.Г., Черняк А.В., Калманова Е.Н., Медведев О.С., Куропаткина Т.А., Варфоломеев С.Д., Рябконов А.М., Свитич О.А., Костинов М.П., Куню Ibaraki, Hiroki Machaga, Чучалин А.Г. Ингаляционный водород в реабилитационной программе медицинских работников, перенесших COVID-19. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021, 20; 6: 2986. doi:10.15829/1728-8800-2021-2986.
  88. Ahmed N.Sh., Lopes-Pires M.-E., Pugh N. Zinc: an endogenous and exogenous regulator of platelet function during hemostasis and thrombosis, *Platelets*. 2021, 32; 7: 880-887. DOI: 10.1080/09537104.2020.1840540.
  89. Akbari A., Khammar M., Taherzadeh D., Rajabian A., Zak A.K., Darroudi M. Zinc-doped cerium oxide nanoparticles: Sol-gel synthesis, characterization, and investigation of their in vitro cytotoxicity effects. *Journal of Molecular Structure*. 2017; 1149: 771-776.
  90. de Alcantara F.C., Lozano V.F., Velosa A.S.V., dos Santos M.R.M., Pereira R.M.S. New coumarin complexes of Zn, Cu, Ni and Fe with antiparasitic activity. *Polyhedron*. 2015; 101: 165-170.
  91. Aschner M, Gannon M. Manganese (Mn) transport across the rat blood-brain barrier: saturable and transferrin-dependent transport mechanisms. *Brain Res Bull*. 1994; 33: 345-349.
  92. Baltaci A.K, Yuce K. Zinc Transporter Proteins. *Neurochem Res*. 2018, 43; 3: 517-530. doi: 10.1007/s11064-017-2454-y. Epub 2017 Dec 14.
  93. Bartelle B.B., Szulc K.U., Suero-Abreu G.A., Rodriguez J.J., Turnbull D.H. Divalent metal transporter, DMT1: a novel MRI reporter protein. *Magn Reson Med*. 2013, 70; 3: 842-850. doi: 10.1002/mrm.24509. Epub 2012 Oct 12.
  94. Bubols G., Vianna D., Medina-Remón A., Poser G., Lamuela-Raventós R.M., Eiffler-lima V., Garcia S. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2012; 13. DOI: 10.2174/1389557511313030002.
  95. Cassee F.R., van Balen E.C., Singh Ch., Green D., Muijser H., Weinstein J., Dreher K. Exposure, Health and Ecological Effects Review of Engineered Nanoscale Cerium and Cerium Oxide Associated with its Use as a Fuel Additive. *Critical Reviews in Toxicology*. 2011, 41; 3: 213-229. DOI: 10.3109/10408444.2010.529105.
  96. Castro-Marrero J., Saez-Francas N., Segundo M.J., Calvo N., Faro M., Aliste L., de Sevilla T.-F., Alegre J. Effect of coenzyme Q 10 plus nicotinamide adenine dinucleotide supplementation on maximum heart rate after exercise testing in chronic fatigue syndrome: a randomized, controlled, double blind trial. *Clin Nutr ESPEN*. 2016; 35: 826-834.
  97. Cellular Respiration. LibreTexts libraries. [https://bio.libretexts.org/Learning\\_Objects/Worksheets/Biology\\_Tutorials/Cellular\\_Respiration](https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Worksheets/Biology_Tutorials/Cellular_Respiration).
  98. Chacko B.K., Kramer P.A., Ravi S., Benavides G.A., Tanecia M., Dranka B.P., Ferrick D., Singal A.K., Ballinger S.W., Bailey Sh.M., Hardy R.W., Zhang J., Zhi D., Darley-Usmar V.M. The Bioenergetic Health Index: a new concept in

- mitochondrial translational research. *Clin Sci (Lond)*. 2014; 127: 367, e373.
99. Chang C., Lee Luo C., Gao Y. In crystallo observation of three metal ion promoted DNA polymerase misincorporation. *Nat Commun*. 2022; 13: 2346. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30005-3>.
100. Cooper G.M. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd Edition. Sunderland (MA, USA), Sinauer Associates. 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885>.
101. Cotruvo J.A. Jr. *The Chemistry of Lanthanides in Biology: Recent Discoveries, Emerging Principles, and Technological Applications*. ACS Cent Sci. 2019, 5; 9:1496-1506. DOI: 10.1021/acscentsci.9b00642. Epub 2019.
102. Erikson K.M., Aschner M. Manganese: its role in disease and health. *Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic*. Edited by P.L. Carver. Berlin, Boston, De Gruyter. 2019: 253-266. <https://doi.org/10.1515/9783110527872-010>.
103. Evans C.H. *Biochemistry of the Lanthanides*. Springer US. 1990; 8: 444. DOI: 10.1007/978-1-4684-8748-0.
104. Fernsebner K., Zorn J., Kanawati B., Walker A., Michalke B. Manganese leads to an increase in markers of oxidative stress as well as to a shift in the ratio of Fe(II)/(III) in rat brain tissue. *Metallomics*. 2014; 6: 921-931.
105. Flammacerium. PubChem. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Flammacerium>.
106. de Graaf E., van Baar M.E., Baartmans M.G.A., Scholten-Jaegers S.M.H.J., Nieuwenhuis M.K., Eshuis J., Hiddingh J., Beerthuizen G.I.J.M., van der Vlies C.H. Partial-thickness scalds in children: A comparison of different treatment strategies. *Burns*. 2017, 43; 4:733-740. DOI: 10.1016/j.burns.2016.10.009. Epub 2016 Dec 28.
107. Garner J.P., Heppell P.S. The use of Flammacerium in British Burns Units. *Burns*. 2005, 31; 3: 379-82. DOI: 10.1016/j.burns.2004.12.001.
108. Gracia C.G. An open study comparing topical silver sulfadiazine and topical silver sulfadiazine-cerium nitrate in the treatment of moderate and severe burns. *Burns*. 2001, 27; 1: 67.
109. Hamacher-Brady A. CMLS forum reviews: mitochondrial damage control. *Cell. Mol. Life Sci*. 2021. 78: 3763-3765. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03804-y>.
110. Han S.I., Lee S.-W., Cho M.G., Yoo J.M., Oh M.H., Jeong B., Kim D., Park O.K., Kim J., Namkoong E., Jo J., Lee N., Lim Ch., Soh M., Sung Y.-E., J Yoo J., Park K., Hyeon T. Epitaxially Strained CeO<sub>2</sub>/Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocrystals as an Enhanced Antioxidant for Radioprotection. *Advanced Materials*. 2020, 32: 10.1002/adma.202001566.
111. He E., Qiu H. Lanthanum and cerium disrupt similar biological pathways and interact synergistically in *Triticum aestivum* as revealed by metabolomic profiling and quantitative modeling. *Journal of Hazardous Materials*. 2021; 426: 127831. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127831.
112. He L., Girijashanker K., Dalton T.P., Reed J., Li H., Soleimani M., Nebert D.W. ZIP8, member of the solute-carrier-39 (SLC39) metal-transporter family: characterization of transporter properties. *Mol Pharmacol*. 2006; 70: 171-180.

113. Hemel I.M.G.M., Engelen B.P.H., Lubber N., Gerards M. A hitchhiker's guide to mitochondrial quantification. *Mitochondrion*. 2021; 59: 216-224.
114. Horn D., Barrientos A. Mitochondrial copper metabolism and delivery to cytochrome c oxidase. *IUBMB Life*. 2008, 60; 7: 421-429. DOI: 10.1002/iub.50.
115. Hu T.C., Pautler R.G., MacGowan G.A., Koretsky A.P. Manganese-enhanced MRI of Mouse Heart During Changes in Inotropy. *Magn Reson Med*. 2001; 46: 884-890.
116. Hübner C., Haase H. Interactions of zinc- and redox-signaling pathways, *Redox Biology*. 2021; 41: 101916. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101916>.
117. Jiao H., Jiang D., Hu X., Du W., Ji L., Yang Y., Li X., Sho T., Wang X., Li Y., Wu Y.T., Wei Y.H., Hu X., Yu L. Mitocytosis, a migrasome-mediated mitochondrial quality-control process. *Cell*. 2021, 27; 184(11): 2896-2910. e13. DOI: 10.1016/j.cell.2021.04.027.
118. Kadenbach B. Regulation of cytochrome c oxidase contributes to health and optimal life. *World J Biol Chem*. 2020, 27; 11(2): 52-61. DOI: 10.4331/wjbc.v11.i2.52.
119. Kajorunga G.W., Fischer D., Risso L.-A., Koury D., Marti E.J. Application of cerium and lanthanum coagulants in wastewater treatment – A comparative assessment to magnesium, aluminum, and iron coagulants. *Chemical Engineering Journal*. 2021, 426; 131268.
120. Kelso G.F., Porteous C.M., Coulter C.V., Hughes G., Porteous W.K., Ledgerwood E.C., Smith R.A., Murphy M.P. Selective targeting of a redox-active ubiquinone to mitochondria within cells: antioxidant and antiapoptotic properties. *J Biol Chem*. 2001, 276; 7: 4588-4596.
121. Khatir N.M., Sabbagh F. Green Facile Synthesis of Silver-Doped Zinc Oxide Nanoparticles and Evaluation of Their Effect on Drug Release. *Materials (Basel)*. 2022, 15; 16: 5536. DOI: 10.3390/ma15165536.
122. Kostova I. Synthetic and Natural Coumarins as Cytotoxic Agents. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*. 2005; 5: 29-46.
123. Kurup R.K., Kurup P.A. Isoprenoid pathway dysfunction in chronic fatigue syndrome. *Acta Neuropsychiatr*. 2003; 15: 266-273.
124. Lansdown A.B., Myers S.R., Clarke J.A., O'Sullivan P. A reappraisal of the role of cerium in burn wound management. *Journal of Wound Care*. 2003, 12; 3: 113-118. DOI: 10.12968/jowc.2003.12.3.26480.
125. Lanza I.R., Nair S.K. Mitochondrial metabolic function assessed in vivo and in vitro. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2010, 13; 5: 511-517.
126. Li L., Yang X. The Essential Element Manganese, Oxidative Stress, and Metabolic Diseases: Links and Interactions. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018: 7580707. DOI: 10.1155/2018/7580707.
127. Liu, Y., Chen, Z., Liu, L., Peng, Y., Hong, X., Yang, B., Liu, H., Liang, H., Orvig, C. Divalent later transition metal complexes of the traditional chinese medicine (TCM) lirioidenine: coordination chemistry, cytotoxicity and DNA binding studies. *Dalton transactions*, 2009; 48: 10813-10823.
128. Lucaciu C.M., Dragu C., Copăescu L., Morariu V.V. Manganese transport through human erythrocyte membranes. An EPR study. *Biochim Biophys Acta*. 1997; 1328: 90-98.
129. Maret W. The redox biology of redox-inert zinc ions. *Free Radic Biol Med*. 2019; 134: 311-326. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.006. Epub 2019 Jan 6.

130. Moos W.H., Faller D.V., Glavas I.P., Harpp D.N., Kamperi N., Kanara I., Kodukula K., Mavrakis A.N., Pernokas J., Pernokas M., Pinkert C.A., Powers W.R., Steliou K., Tamvakopoulos C., Vavvas D.G., Zamboni R.J., Sampani K. Pathogenic mitochondrial dysfunction and metabolic abnormalities. *Biochemical Pharmacology*. 2021; 193: 114809. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114809>.
131. Narita K., Kawasaki F., Kita H. Mn and Mg Influxes Through Ca Channels of Motor Nerve Terminals Are Prevented by Verapamil in Frogs. *Brain Research*. 1990; 510: 289-295.
132. Ngoc L.T.N., Park S.-M., Oh J.-H., Shin H.Y., Kim M.I., Lee H.Uk, Lee K.-B., Lee K.-S., Moon J.-Y., Kwon O.-H., Yang H.Y., Lee Y.-C. Cerium Aminoclay – A Potential Hybrid Biomaterial for Anticancer Therapy. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2019, 5; 11: 5857-5871. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.9b00789.
133. Nicolson G.L. Mitochondrial Dysfunction and Chronic Disease: Treatment With Natural Supplements. *Integr Med (Encinitas)*. 2014, 13; 4: 35-43.
134. Oen I.M.M.H, van Baar M.E., Middelkoop E., Nieuwenhuis M.K. Effectiveness of cerium nitrate-silver sulfadiazine in the treatment of facial burns: a multicenter, randomized, controlled trial. *Plast Reconstr Surg*. 2012, 130; 2: 274e-283e. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182589d63.
135. Ortiz-González X.R. Mitochondria in Neurodevelopmental Disorders. *Dev Neurosci*. 2021; 43: 222-229.
136. Pol A., Barends T.R.M., Dietl A., Khadem A.F., Eygensteyn J., Jetten M.S.M., Op den Camp H.J.M. Rare earth metals are essential for methanotrophic life in volcanic mudpots. *Environmental microbiology*. 2014, 16; Issue: 1: 255-264.
137. Prasad A.S. Zinc is an Antioxidant and Anti-Inflammatory Agent: Its Role in Human Health. *Front Nutr*. 2014; 1: 14. DOI: 10.3389/fnut.2014.00014.
138. Ramenzoni L.L., Weber F.E., Attin T., Schmidlin P.R. Cerium Chloride Application Promotes Wound Healing and Cell Proliferation in Human Foreskin Fibroblasts. *Materials*. 2017; 10: 573-582; DOI:10.3390/ma10060573.
139. Ramírez-Olvera S.M., Trejo-Téllez L.I., García-Morales S., Pérez-Sato J.A., Gómez-Merino F.C. Cerium enhances germination and shoot growth, and alters mineral nutrient concentration in rice. *PLoS ONE*. 2018, 13; 3: e0194691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194691>.
140. Rashaan Z.M., Krijnen P., Kwa K.A.A., van der Vlies C.H., Schipper I.B., Breederveld R.S. Flaminal® versus Flamazine® in the treatment of partial thickness burns: A randomized controlled trial on clinical effectiveness and scar quality (FLAM study). *Wound Rep and Reg*. 2019; 27: 257-267. <https://doi.org/10.1111/wrr.12699>.
141. Read A.D., Bentley R.E.T., Archer S.L., Dunham-Snary K.J. Mitochondrial iron-sulfur clusters: Structure, function, and an emerging role in vascular biology. *Redox Biology*. 2021; 47: 102164. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102164>.
142. Romina D.R., D'Arpa P., Moffatt L., Leung K., Shupp J. Cerium Nitrate Treatment in the Management of Burns. *Advances in Wound Care*. 2022, 11; 8: 443-454. <http://doi.org/10.1089/wound.2020.1330>.
143. Rossetto D., Mansy S.S. Metals Are Integral to Life as We Know It. *Front Cell Dev Biol*. 2022; 10: 864830.

144. Seo Y.A., Li Y., Wessling-Resnick M. Iron depletion increases manganese uptake and potentiates apoptosis through ER stress. *NeuroToxicology*. 2013; 38: 67-73.
145. Silver sulfadiazine. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 441244. Retrieved August 9, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Silver-sulfadiazine>.
146. Smith M.R., Fernandes J., Go Y.M., Jones D.P. Redox dynamics of manganese as a mitochondrial life-death switch. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017, 482; 3: 388-398. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.126. Epub 2017 Feb 3.
147. Studer J.M., Schweer W.P., Gabler N.K., Ross J.W. Functions of manganese in reproduction. *Anim Reprod Sci*. 2022; 238: 106924. doi: 10.1016/j.anireprosci.2022.106924. Epub 2022 Jan 18.
148. Tinkov A.A., Paoliello M.M.B., Mazilina A.N., Skalny A.V., Martins A.C., Voskresenskaya O.N., Aaseth J., Santamaria A., Notova S.V., Tsatsakis A., Lee E., Bowman A.B., Aschner M. Molecular Targets of Manganese-Induced Neurotoxicity: A Five-Year Update. *Int J Mol Sci*. 2021, 22; 9: 4646. DOI: 10.3390/ijms22094646.
149. Toxicological review of Cerium Oxide and Cerium Compounds (CAS No. 1306-38-3). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC, 2009. 118 p. Available on 22.04.2022. [www.epa.gov/iris](http://www.epa.gov/iris).
150. Von Montfort C., Alili L., Teuber-Hanselmann S., Brenneisen P. Redox-active cerium oxide nanoparticles protect human dermal fibroblasts from PQ- induced damage. *Redox Biology*. 2015; 5: 424-429. Available on 22.04.2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2014.11.007>.
151. Wang X. An Introduction to Divalent Metal Transporter 1. *Diagnos Pathol Open*. 2022; S1: 003. DOI: 10.4172/2476-2024.S10.1000003.
152. Wilson A.P., Treasure T., Sturridge M.F. A scoring method (ASEPSIS) for postoperative wound infections for use in clinical trials of antibiotic prophylaxis. *Lancet*. 1986, 1; 8476: 311-313.
153. Wood E., Hall K.H., Tate W. Role of mitochondria, oxidative stress and the response to antioxidants in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: A possible approach to SARS-CoV-2 'long-haulers'? *Chronic Diseases and Translational Medicine*. 2021, 7; 1: 14-26.
154. Wostemeyer J. Friedrich Schiller University Jena. [https://www.researchgate.net/post/What\\_is\\_the\\_role\\_of\\_Cerium\\_and\\_Barium\\_in\\_the\\_human\\_body](https://www.researchgate.net/post/What_is_the_role_of_Cerium_and_Barium_in_the_human_body).
155. Xiao-bin W.U., Zeng-li Z.H.U., Kong H., Fan Y.-q., Cheng Si-w., Hua Z.-s. Electrochemical reduction mechanism of Zn<sup>2+</sup> in molten NaCl–KCl eutectic. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*. 2022: 323088-323098.
156. Yang L., Arora K., Beard W.A., Wilson S.H., Schlick T. Critical Role of Magnesium Ions in DNA Polymerase  $\beta$ 's Closing and Active Site Assembly. *J. Am. Chem. Soc*. 2004, 126; 27: 8441-8453.

## Благодарности

Монография подготовлена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-415-596008 p\_НОЦ\_Пермский край.

Авторы выражают благодарность заведующей кафедрой фармакологии, профессору Г.П. Вдовиной и коллективу ЦНИЛ ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России за организацию и проведение комплекса доклинических исследований.

Авторы выражают глубокую признательность главному врачу ГАУЗ ПК ГКБ №4 А.В. Ронзину, Заведующему кафедрой общей хирургии, профессору В.А. Самарцеву и доценту В.А. Гаврилову за помощь в проведении клинических наблюдений с участием пациентов хирургического профиля.

Благодарим заместителя директора по научной работе Института химии твердого тела УрО РАН, заведующего лабораторией физико-химических методов анализа, доктора химических наук В.Е. Полякова за консультации и помощь в оценке результатов химических реакций с участием хлорида церия (III).

Научное издание

**В. Ю. Мишланов, В. А. Черешнев, А. Г. Чучалин**

**ЦЕРИЙ И ДРУГИЕ МЕТАЛЛЫ  
ПЕРЕМЕННОЙ ВАЛЕНТНОСТИ  
В МЕДИЦИНЕ**

Макет, верстка, обложка С. А. Лишанской

Подписано в печать 27.09.2023.

Формат 84х108 1/16. Печать офсетная.

Тираж 300 экз. Заказ №

Отпечатано в ООО «Тпограф».

618540. г. Соликамск, Соликамское шоссе, 17.

[www/tipograf/su](http://www.tipograf/su)