ԵՐԵՎԱՆԻ ՄԽԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՂԱԶԱՐՅԱՆ ԱՆԻ ՎԱՉԱԳԱՆԻ

«ԱՐՄԵՆԻԿՈՒՄ» ՄԱԾՈՒԿԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱԵՐՈԲԱՅԻՆ ԹԱՐԱԽԱՅԻՆ ՎԵՐՔԻ ԲՈՐԲՈՔԱՅԻՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԸՆԹԱՑՔԻ ՎՐԱ

ԺԵ.00.01 – «Դեղագիտություն» մասնագիտությամբ Դեղագործական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2018

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ МХИТАРА ГЕРАЦИ

КАЗАРЯН АНИ ВАЧАГАНОВНА

ВЛИЯНИЕ ПАСТЫ “АРМЕНИКУМ” НА ТЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА АЭРОБНОЙ ГНОЙНОЙ РАНЫ

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 - «Фармацевтика»

ЕРЕВАН 2018

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի Մխիթար Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝ բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Հ.Վ.Թոփչյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Է.Ս.Սեկոյան
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Կ.Թ.Սահակյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի պետական համալսարան, Ֆարմացիայի ինստիտուտ

Պաշտպանությունը կայանալու է 2018թ. ապրիլի 26-ին ժամը 15^{00}-ին Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գործող ԲՈՀ-ի 026 «Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0025, ք. Երևան, Կորյունի 2):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2018թ. մարտի 26-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ա.Ս. Տեր-Մարկոսյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете имени Мхитара Гераци.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор А.В.Топчян

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор Э.С.Секоян
доктор биологических наук, профессор К.Т.Саакян

Ведущая организация: Ереванский государственный университет, Институт фармации

Защита диссертации состоится 26 апреля 2018г. в 15^{00} на заседании специализированного совета 026 «Теоретическая медицина» ВАК при Ереванском государственном медицинском университете имени М. Гераци (РА, 0025, г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного медицинского университета имени М. Гераци.

Автореферат разослан 26 марта 2018г.

Ученый секретарь специализированного совета доктор биологических наук, профессор А.С. Тер-Маркосян

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Թեմայի արդիականությունը: Վերքային ինֆեկցիայի խնդիրը մինչ օրս չափազանց արդիական է ժամանակակից բժշկության մեջ: Աշխարհի շատ երկրներում արձանագրվել է, որ վերքերի թարախաբորբոքային բարդությունների թիվը միտված չէ նվազելու, ինչն առաջին հերթին կապված է հակամանրէային դեղապատրաստուկների, մասնավորապես՝ հակաբիոտիկների նկատմամբ վերքում պերսիստացող միկրոֆլորայի կողմից ռեզիստենտության առաջացման, բուժման համընդհանուր մեթոդների ցածր արդյունավետության, բուժման ժամկետների տևողության հետ *[Гайдуль К.В., Муконин А.А., 2005, Rosenthal J. et al., 2013]:*

Չնայած հզոր մանրէասպան միջոցների և թանկարժեք սարքավորումների օգտագործմանը՝ թարախաբորբոքային բարդությունների թիվը քիչ է փոփոխվել՝ համեմատած մինչհակասեպտիկ դարաշրջանի հետ, և ԱՄՆ-ում այժմ այն կազմում է 30-40%: Այդպիսի բարդությունները 2-3 անգամ մեծացնում են հիվանդների բուժման ժամկետները և գումարները: Օրինակ, ԱՄՆ-ում այդ նպատակով տարեկան կտրվածքով ծախսվում է մինչև 10 մլրդ դոլար: Վիրաբուժական ստացիոնարներում մահացության գլխավոր պատճառը թարախաբորբոքային բարդություններն են *[Фейгельман С., 2007, Saha S.K. et al., 2011]:* ԱՄՆ-ի հիվանդությունների վերահսկման և կանխարգելման կենտրոնների (US Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) գնահատմամբ՝ տարեկան մոտավորապես 500.000 վիրահատված հիվանդների մոտ առաջանում են հետվիրահատական վերքային ինֆեկցիաներ *[Bratzler D.W., 2005]:*

Ներկայումս ԱՊՀ երկրներում վիրաբուժական պրոֆիլի հիվանդների մոտ 40%-ի թարախաբորբոքային վերքերի բարդություններ *[Абаев Ю.К., 2006]:*

Վերքերի լավացման գործընթացում, բացի ինֆեկցիոն գործոնից, ոչ պակաս կարևոր դեր է հատկացվում տեղային՝ վերքի փափուկ հյուսվածքներում արտադրվող ցիտոկիններին և միջնորդանյութերին: Խոսքն առաջին հերթին վերաբերվում է ֆիբրոնեկտին-ցիտոկինին, որը սինթեզվում է բջջային ինֆիլտրատի ֆիբրոբլաստներում, մակրոֆագերում և լեյկոցիտներում, և որոշիչ դեր է խաղում *in situ* վերականգնողական-պրոլիֆերատիվ ռեակցիաների ակտիվացման պրոցեսում *[Sevilla C.A. et al., 2013]*: Ֆիբրոնեկտինը նաև ընկճող ազդեցություն ունի միկրոանոթների էնդոթելային բջիջներում ազոտի օքսիդի սինթեզի պրոցեսների վրա, որը, ինչպես հայտնի է, քանակակախյալ եղանակով ընգծված տոքսիկ ազդեցություն է դրսևորում շարակցահյուսվածքային և պարենքիմատոզային բջիջների վրա *[Viji R. et al., 2009]:* Դա հաշվի առնելով, մեր

կողմից նպատակ դրվեց ուսումնասիրել ֆիբրոնեկտինի և *eNOS* պարունակության տեղաշարժերը վերքի փափուկ հյուսվածքներում՝ «Արմենիկում» մածուկի կիրառման պայմաններում:

Վերքերի բուժման համար առաջարկվող հայկական արտադրության «Արմենիկում» մածուկը հիդրոֆիլ հիմքով բազմաբաղադրիչ քսուք է, որի կազմի մեջ, որպես ազդող նյութ, հանդես է գալիս յոդ-դեքստրին կոմպլեքսը: Հայտնի է, որ մակերևութային ակտիվ նյութերի (դեքստրին, պոլիվինիլպիրոլիդոն) հետ յոդի կիրառումը (յոդոֆորներ) թույլ է տալիս նվազեցնել յոդի կողմնակի ազդեցությունները, ապահովում է յոդի երկարատև պահպանումը վերքային մակերևույթին՝ նպաստելով նրա դեղաբանական ազդեցության դրսևորմանը: Յոդոֆորներն ունեն կենսաբանական ազդեցության լայն ոլորտ, նրանց նկատմամբ մանրէների կայուն շտամներ գրեթե չեն առաջանում: Յոդոֆորների առավելություններից է համարվում նաև յոդի կուտակային, գրգռիչ ազդեցության և թունայնության նվազեցումը՝ յոդի սպիրտային լուծույթի և Լյուգոլի լուծույթի համեմատ *[Габриелян Э.С. и Мхитарян Л.М, 2001, Drosou A., 2003]*:

«Արմենիկում» մածուկի ուղղորդված փորձարկման անհրաժեշտությունը պայմանավորված էր հետևյալ հանգամանքներով.

1. Նշված դեղապատրաստուկը չի դիտարկվում որպես արդյունավետ «բուժիչ միջոց» աերոբային և անաերոբային վերքերի բուժման ժամակ:
2. Նույնիսկ վերքային պրոցեսի փորձարարորեն մոդելավորման պայմաններում չեն բացահայտվել վերքերի լավացման վրա «Արմենիկումի» ազդեցության հնարավոր մեխանիզմները, հաշվի չեն առնվել այրվածքային վերքում բորբոքային պրոցեսի ընթացքի կոնկրետ փուլերը:
3. Հիմնավորված չէր «Արմենիկում» մածուկում առկա ակտիվ բաղադրիչներից մեկի՝ յոդի դեղաչափը:

Դրա հետ կապված, արդիական էին ուսումնասիրությունները, որոնք ուղղված են Արմենիկում մածուկում առկա յոդի դեղակինետիկայի ուսումնասիրությանը, և դրա հիման վրա նրա օպտիմալ դեղաչափի որոշմանը: Նպատակահարմար էին նաև այն հետազոտությունները, որոնք ուղղված են Արմենիկում մածուկի թերապևտիկ արդյունավետության հետազոտմանը առաջացված վերքային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի վրա:

Հետազոտության նպատակը և խնդիրները: Սույն հետազոտության նպատակն է «Արմենիկում» մածուկի տեղային կիրառման պայմաններում յոդիդ անիոնի դեղակինետիկայի և վերքային պրոցեսի ընթացքի վրա դեղապատրաստուկի ազդեցության ուսումնասիրությունը, «Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացի ներդրումը:

Նպատակի իրագործման համար առաջադրվեցին հետևյալ խնդիրները.

1. Կատարել յոդիդ անիոնի դեղակինետիկայի ուսումնասիրություն և համեմատական վերլուծություն երկու (բարձր և ցածր) դեղաչափերով մածուկների կիրառման պայմաններում,
2. Ուսումնասիրել աերոբային թարախային վերքի բորբոքային էքսուդատի բնույթը (ցիտոգրամմա)՝ որոշելով *in situ* իմունակոմպետենտ բջիջների (մակրոֆագերի և լեյկոցիտների) ֆագոցիտար ակտիվությունը,
3. Ուսումնասիրել վերքային էքսուդատի մանրէային աղտոտվածության բնույթը և աստիճանը (գրամ-բացասական և դրական միկրոֆլորան),
4. Հետազոտել փափուկ հյուսվածքների ախտահարման շրջանում մորֆոֆունկ-ցիոնալ տեղաշարժերը՝ հաշվի առնելով տեղային բորբոքային պրոցեսի փուլային բնույթը,
5. Հետազոտել ֆիբրոնեկտինի և eNOS պարունակության տեղաբաշխման առանձնահատկությունները վերքի փափուկ հյուսվածքներում:
6. Ստացված սեփական արդյունքների հիման վրա որոշել փորձարկվող «Արմենիկում» դեղապատրաստուկի բուժիչ արդյունավետության օգտին վկայող մորֆոֆունկցիոնալ տեղաշարժերի ախտանշահամալիրը,
7. Իրականացնել «Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացի վալիդացումը գործարանային պայմաններում:

Գիտական նորույթը: Թարախային վերքի մոդելի վրա բացահայտվել և պաթոգենետիկորեն հիմնավորվել է «Արմենիկում» դեղապատրաստուկի բուժիչ ազդեցությունը: Կատարված մորֆոլոգիական, մորֆոմետրիկ, իմունամորֆո-լոգիական հետազոտություններով հաստատվել է, որ «Արմենիկում» մածուկը չափազանց բարենպաստ ազդեցություն է դրսևորում տեղային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի վրա՝ ինչպես մեկնարկային, այնպես էլ վերջնական փուլերում, որը դրսևորվում էր վերքի վաղ մաքրմամբ պերսիստացող միկրո-օրգանիզմներից, մակրոֆագերի և լեյկոցիտների ֆագոցիտար ակտիվության բարձրացմամբ, վերականգնողական-պրոլիֆերատիվ ռեակցիաների ակտիվաց-մամբ: Հաստատվել է նաև, որ վերքի վաղ լավացման մեխանիզմում «Արմենիկումի» տեղային կիրառման պայմաններում կարևոր դեր է կատարում *in situ* սինթեզվող ֆիբրոնեկտինը, որի շնորհիվ տեղի է ունենում ֆիբրոպլաստիկ պրոցեսների վաղ ակտիվացումը:

Հաստատվել է, որ «Արմենիկում» մածուկի կազմում ակտիվ բաղադրիչ է հանդիսանում յոդ-դեքստրին կոմպլեքսը, որի շնորհիվ իրականանում են բոլոր վերը նշված կառուցվածքաֆունկցիոնալ տեղաշարժերը վերքային բորբոքային

պրոցեսում: Ուսումնասիրվել և համեմատվել է «Արմենիկում» մածուկի ակտիվ բաղադրիչներից մեկի՝ յոդի դեղակինետիկան առնետների մոտ 10,2մգ/կգ և 5,1մգ/կգ դեղաչափերով ընդհանուր յոդի պարունակությամբ մածուկների դեպքում:

Գիտագործնական նշանակությունը: Դեղակինետիկական ուսումնասիրությունների տվյալների հիման վրա, առավել օպտիմալ դեղաչափի պարունակության առումով, առաջարկվել է 10,2մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդ պարունակող մածուկը՝ հաշվի առնելով վերքային մակերևույթին յոդի ավելի երկարատև պահպանումը, և հետևաբար, ավելի արտահայտված դեղաբանական ազդեցության դրսևորման հնարավորությունը:

Էքսպերիմենտի պայմաններում հաստատվել են աերոբային վերքային պրոցեսի ընթացքի վրա «Արմենիկում» դեղապատրաստուկի մանրէականգ և մանրէասպան ազդեցությունները:

Դեղակինետիկական և մորֆոլոգիական ուսումնասիրությունների հիման վրա յոդի հաստատված օպտիմալ դեղաչափով «Արմենիկում» մածուկի՝ ՀՀ-ում գրանցումից հետո ներդրվել է դեղի գործարանային արտադրությունը «Արփիմեդ» ՍՊԸ ընկերությունում: Իրականացվել է մածուկի արտադրական գործընթացի վալիդացումը 2015թ. արտադրված երեք խմբաքանակների (50-ական կգ) համար, ըստ միջազգային Պատշաճ Արտադրական Գործունեության (ՊԱԳ) պահանջների:

Աշխատանքի նախնական փորձաքննությունը: Աշխատանքի արդյունքները զեկուցվել են 2010թ. ԵՊԲՀ երիտասարդ գիտնականների միջազգային գիտաժողովում և 2014թ. ԵՊԲՀ տարեկան հաշվետու գիտաժողովում: Աշխատանքը նախնական փորձաքննության է ենթարկվել ԵՊԲՀ-ի գիտակոորդինացիոն խորհրդում (դեկտեմբերի 20, 2017թ., արձանագրություն թիվ 8):

Հրապարակումները: Ատենախոսության թեմայով տպագրվել է 8 աշխատանք:

Ատենախոսության կառուցվածքը: Ատենախոսությունը շարադրված է 141 տպագրական էջերի վրա և բաղկացած է հետևյալ բաժիններից՝ ներածություն, գրականության ակնարկ, հետազոտության նյութ և մեթոդներ, արդյունքներ և դրանց քննարկում, ամփոփում, եզրակացություններ, գրականության ցանկ, որը ներառում է 143 աղբյուր: Աշխատանքը լուսաբանված է 39 նկարներով և 17 աղյուսակներով:

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Առնետների արյան մեջ «Արմենիկում» մածուկի դեղակինետիկայի ուսումնասիրության համար նախապես իրականացվել է արյան շիճուկում յոդիդ անիոնի հայտնաբերման անալիտիկ մեթոդի վալիդացում համաձայն FDA պահանջների, ըստ հետևյալ ցուցանիշների՝ գծայնություն, աշխատանքային սահման, հստակություն, մեթոդի ստանդարտ սխալ, վերարտադրելիություն, կայունություն:

Յոդիդ անիոնի դեղակինետիկ ուսումնասիրություններում օգտագործվել են 168 առնետ, որոնք բաժանվել են 3 խմբի՝ ինտակտ (12 առնետ), որոնց մոտ այրվածք չի առաջացվել և «Արմենիկում» մածուկ չի կիրառվել, ստուգիչ (12 առնետ), որոնց մոտ առաջացվել է ջերմային այրվածք և չի կիրառվել «Արմենիկում» մածուկ և փորձարկվող խումբ՝ 144 առնետ, որոնց մոտ առաջացվել է այրվածք և կիրառվել է «Արմենիկում» մածուկ՝ 5,1մգ/կգ (1-ին ենթախումբ, 72 առնետ) և 10,2մգ/կգ (2-րդ ենթախումբ, 72 առնետ) դեղաչափերով:

Փորձարկվող և ստուգիչ խմբերի կենդանիների մոտ թիկունքի շրջանում, անզգայացման պայմաններում, առաջացվել է 3-րդ աստիճանի ջերմային այրվածք: Այրվածքի առաջացումից 5-7 րոպե հետո փորձարկվող խմբի երկու ենթախմբերի կենդանիների վերքային ամբողջ մակերևույթին քսվել է 5,1 մգ/կգ և 10,2 մգ/կգ դեղաչափերով «Արմենիկում» մածուկ, որը ծածկել է վերքը:

Կենդանիներից արյան շիճուկը ստացվել է համընդհանուր ընդունված մեթոդով: Կենդանիներին գլխատելուց հետո առանձնացված արյունով փորձանոթները 1 ժամ պահվել են 8-15°C պայմաններում, այնուհետև ցենտրիֆուգվել են 3000 պտ/րոպե արագությամբ 10 րոպեի ընթացքում: Ցենտրիֆուգելուց հետո հեղուկ ֆազը՝ վերին շերտը (շիճուկը), զգուշորեն անջատվել է նստվածքից:

Փորձարկվող խմբի կենդանիները ուսումնասիրվել են ըստ ժամանակացույցի. արյունը կենդանիներից վերցվել է դեղի կիրառումից հետո 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 14 և 24 ժամ անց: Յուրաքանչյուր ժամանակային կետի հետազոտման համար օգտագործվել է 6 առնետ: Յոդիդ անիոնի խտությունը որոշվել է պոտենցաչափական եղանակով *[Abraham G.E. et al., 2004]*: Չափագրումները կատարվել են Thermo Scientific Orion 720A plus pH/mV/ISE Benchtop Meters սարքով, կիրառելով համապատասխան իոն-սելեկտիվային էլեկտրոդ:

Հետազոտվող դեղի դեղակինետիկ պարամետրերի հաշվարկը կատարվել է Kinetica 4.4.1 դեղակինետիկ ծրագրով: Վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է Graph Pat Prism 3.03 և Microsoft Excel 2007

համակարգչային ծրագրերով: Յուրաքանչյուր վիճակագրական վերլուծությունը սկսելուց առաջ իրականացվել է հետազոտվող խմբերի տվյալների՝ նորմալ սփռման չափորոշիչներին համապատասխանության ստուգումը: Խմբերի միջև քանակական ցուցանիշների միջինները համեմատելիս, երբ փոփոխականների սփռման կորը չի համապատասխանել նորմալ սփռման չափորոշիչներին, օգտագործվել է Մանն-Վիտնեյի թեստը, իսկ եթե համապատասխանել է նորմալ սփռման չափորոշիչներին, ապա Ստյուդենտի զուգավորված T թեստը: Վարկածների երկկողմանի թեստավորումն անցկացվել է հավաստիության 0,05 մակարդակի պայմաններում:

Մորֆոլոգիական և իմունամորֆոլոգիական ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել են թվով 312 130-150գ զանգվածով, արու սպիտակ առնետներ: Կենդանիները պահվել են վիվարիումի ստանդարտ պայմաններում (12 ժամ լույս, 12 ժամ մութ, օդի ջերմաստիճանը +18 - +20°C, խոնավությունը՝ 50-60%), յուրաքանչյուր վանդակում 4-6 առնետ:

Կենդանիները բաժանվել են 2 խմբի՝ ստուգիչ և փորձարկվող: 2 խմբերի կենդանիների ազդրի վրա առաջացվել է թարախային վերքի մոդել՝ համաձայն Ս.Ս. Հովհաննիսյանի և համահեղինակների կողմից առաջարկված սխեմայի (1987): Վերքի առաջացումից հետո 3 անգամ, 4-ժամյա ինտերվալներով, փորձարկվող խմբի կենդանիների վերքային մակերևույթին քսվել է 10,2 մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդի պարունակությամբ «Արմենիկում» մածուկ (այն դեղաչափով, որը դեղակինետիկական ուսումնասիրությունների արդյունքում մեր կողմից հաստատվել էր որպես օպտիմալ):

Ստուգիչ և փորձարկվող խմբերի կենդանիները էքսպերիմենտից դուրս են բերվել տեղային բորբոքային պրոցեսի 3-րդ, 5-րդ և 8-րդ օրերին՝ պահպանելով ԵՊԲՀ էթիկայի հանձնաժողովի կողմից ներկայացող բոլոր անհրաժեշտ պայմանները: Յուրաքանչյուր ենթախմբում օգտագործվել է 20-ական առնետ:

Վերքային էքսուդատի բջջային կազմի ցիտոլոգիական և մորֆոմետրիկ (ցիտոգրամմա) քննության համար պատրաստվել են քսուկ-դրոշմվածքներ, որոնք ներկվել են ազուր II-էոզինով: Քսուկ-դրոշմվածքները ենթարկվել են նաև ֆլյուորոքրոմավորման ակրիդինային նարնջագույնով *[Пирс Э., 1962]*: Վերքի փափուկ հյուսվածքներից պատրաստված կրիոստատային հատածները ներկվել են հեմատոքսիլին-էոզինով և ազուր-II էոզինով: Պատրաստուկները դիտվել են “Micros” (Ավստրիա) եռօկուլյար լուսային մանրադիտակի օգնությամբ՝ ստանալով միկրոֆոտոների թվայնացված պատկերները: Պլանիմետրիկ հետազոտու-

թյունները կատարվել են Գ.Գ. Ավտանդիլովի (1973) կողմից առաջարկված հիստոստերեոմետրիկ ցանցի միջոցով:

Վերքի թարմ սառեցված կտորներից պատրաստվել են կրիոստատային հատածներ, որոնք ենթարկվել են իմունաֆլյուորեսցենտային փորձաքննության՝ ֆիբրոնեկտինի և *eNOS* որոշման համար: Երկու դեպքում էլ իրականացվել է Կունսի անուղղակի ռեակցիա: Ֆիբրոնեկտինի որոշման համար, մեթոդի իրականացման առաջին փուլում հատածները մշակվել են ֆիբրոնեկտինի դեմ ճագարային շիճուկով՝ "Sigma" ընկերության (ԱՄՆ): Երկրորդ փուլում օգտագործվել է նշագրված FITC շիճուկ ճագարի IgG դեմ ("Sigma", ԱՄՆ): *eNOS* որոշման նպատակով հատածները մեթոդի իրականացման առաջին փուլում մշակվել են *eNOS* դեմ ճագարային շիճուկով ("Sigma", ԱՄՆ), երկրորդ փուլում օգտագործվել է նշագրված FITC հակաճագարային շիճուկ այծի IgG դեմ ("Sigma", ԱՄՆ):

Երկու դեպքում էլ դրվել են անհրաժեշտ ստուգիչներ՝ համաձայն "Sorin" ընկերության (ԱՄՆ) ուղեցույցում նշված իմունամորֆոլոգիական փորձաքննության անցկացման հրահանգների (2004): Պատրաստուկները դիտվել են եռօկուլյար լումինեսցենտային մանրադիտակով "Boeco" (Գերմանիա)՝ հիստոստերեոմետրիկ ցանցով՝ տեղակայված օկուլյարում: Լումինեսցենցիայի մակերեսային ցուցանիշները արտահայտվել են ֆլյուորեսցենցիայի պայմանական միավորներով (*ՖՊՄ*):

Իրականացված մորֆոլոգիական և իմունամորֆոլոգիական հետազոտությունների արդյունքում ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է SPSS Statistic 20 ծրագրային փաթեթի միջոցով անկախ ընտրության T-կրիտերիաների (Ստյուդենտի կրիտերիաների) միջոցով:

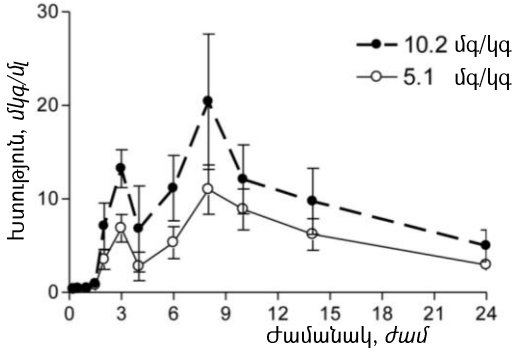
«Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացի վալիդացումն իրականացվել է ըստ ՊԱԳ պահանջների *[Guide to GMP for Medicinal Products, PIC/S, January 2015]*, 3 հաջորդական խմբաքանակների համար (50-ական կգ):

«Արմենիկում» մածուկի արտադրության ընթացքում, մածուկի պատրաստման փուլում յոդի քանակական պարունակության համասեռության ստուգման նպատակով կատարվել են նմուշառումներ (10-ական նմուշ) քսուքային զանգվածի տարբեր մասերից: Պարկուճավորման գործընթացի սկզբում, մեջտեղում և վերջում վերցվել են պարկուճների նմուշներ՝ նրանցում յոդի քանակական պարունակության և պարկուճներում լցավորված զանգվածի ստուգման համար:

Յոդի քանակական պարունակության որոշումը կատարվել է տիտրման եղանակով, ըստ դեղագրքային պահանջների *[Eur.Ph.8.0, Iodine]:*

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

Առնետների արյան մեջ «Արմենիկում» մածուկի դեղակինետիկայի ուսումնասիրության նպատակով մեր կողմից իրականացվել է 5,1մգ/կգ և 10,2մգ/կգ դեղաչափերով ընդհանուր յոդ պարունակող «Արմենիկում» մածուկ քսելուց հետո 2 ենթախմբի կենդանիների արյան շիճուկում յոդիդ անիոնի խտության որոշում՝ 15 րոպեից մինչև 24 ժամ ժամանակահատվածում: Ստացված տվյալները Kinetika 4.4.1 ծրագիր ներմուծելով՝ ստացվել են յոդիդ անիոնի դեղակինետիկ ցուցանիշները (ներծծման արագության հաստատուն, կիսաներծծման ժամանակ, կիսադուրսբերման պարբերություն, բաշխման ծավալ և այլն) բարձր և ցածր դեղաչափերով մածուկների կիրառման դեպքում և համեմատվել:



Նկ.1: *Առնետների արյան մեջ յոդիդ անիոնի խտության փոփոխությունը 5,1մգ/կգ և 10,2մգ/կգ դեղաչափերով ընդհանուր յոդ պարունակող «Արմենիկում» մածուկ քսելուց հետո:*

Ինչպես երևում է նկար 1-ից, յոդիդ անիոնի մակարդակի փոփոխության բնույթը արյան շիճուկում կախված չէ յոդի կիրառվող դեղաչափից: Երկու կինետիկական կորերն էլ բնութագրվում են երկու գագաթներով, որոնք դիտվում են մածուկը քսելուց 3 և 8 ժամ անց: 5,1մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդի պարունակությամբ մածուկի կիրառման դեպքում կիրառման տեղից յոդիդ անիոնի ներծծման արագության հաստատունն ավելի մեծ է (0,231 ժամ$^{-1}$), քան բարձր դեղաչափով մածուկի դեպքում (0,161 ժամ$^{-1}$), որը վկայում է այն մասին, որ ընդհանուր յոդի դեղաչափի մեծացման դեպքում յոդիդ անիոնի ներծծման արագությունը վիճակագրորեն հավաստի նվազում է (p=0,0106*): Համապատասխանաբար նկատվել է նաև վիճակագրորեն նշանակալի (p<0,0001***)՝ արյան մեջ յոդի կիսաներծծման ժամանակի (**$t_{½ներծ}$**) բարձրացում: Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս բացառել այն, որ դեղաչափի ավելացումը նպաստում է յոդիդ անիոնի՝ օրգանների և հյուսվածքների մեջ ներթափանցելու արագության բարձրացման հնարավորությունը, քանի որ յոդի բաշխման ծավալը (Vss) էականորեն ցածր է

10,2մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդ պարունակող մածուկ քսելու դեպքում (267,27±104.015մլ/կգ)՝ համեմատած 5,1մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդ պարունակող մածուկի հետ (392,22±193,622 մլ/կգ, p=0,0281):

Յոդի հարաբերական կենսամատչելիությունը (F) հաշվարկվել է՝ ավելի փոքր դեղաչափի կենսամատչելիությունը նշանակելով որպես 100% *[Ritschel WA, Kearns GL, 1998]*. Յոդի հարաբերական կենսամատչելիութունը 10,2մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդի պարունակությամբ մածուկ քսելու դեպքում կազմում է 5,1մգ/կգ դեղաչափով մածուկի օգտագործման դեպքում յոդիդ անիոնի կենսամատչելիության 90%-ը: Վերջինը թույլ է տալիս ենթադրել, որ մածուկում ընդհանուր յոդի ավելի բարձր դեղաչափի կիրառումը (10,2մգ/կգ) թույլ է տալիս պահպանել յոդի օպտիմալ խտությունը վերքային մակերեսին ավելի երկար ժամանակ, հետևաբար նպաստելով մածուկի դեղաբանական ազդեցության մեծացմանը:

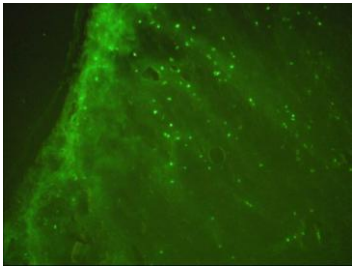
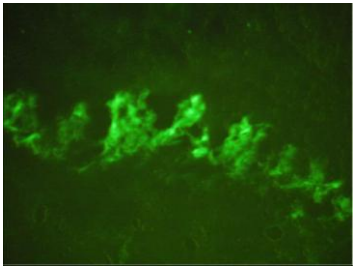
Մորֆոլոգիական, մորֆոմետրիկ և ֆյուորեսցենտա-մանրադիտակա-յին տեսանկյուններից վերքային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի դինամիկայում մեր կողմից ուսումնասիրվել է վերքի էքսուդատի բջջային կազմը **10,2 մգ/կգ դեղաչափով ընդհանուր յոդի պարունակությամբ «Արմենիկում» մածուկի** (այսուհետ՝ **«Արմենիկում» մածուկ**) տեղային կիրառման պայմաններում, քանի որ հաստատված է, որ վերքային էքսուդատը հանդիսանում է որպես բավականին տեղեկատվական օբյեկտ՝ թարախային վերքերի մանրէային աղտոտվածության և էքսուդատի բջիջների ֆագոցիտար ակտիվության աստիճանի որոշման համար:

Ինչպես ցույց են տվել մորֆոլոգիական և մորֆոմետրիկ փորձաքննության արդյունքները, ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ դիտարկման 3-րդ և 5-րդ օրերին դիտվում էր ցիտոգրամմայի դեգեներատիվ-բորբոքային բնույթ: «Արմենիկում» մածուկի կիրառման պայմաններում փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ արդեն իսկ տեղային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի 3-րդ օրը նկատվեց ցիտոգրամմայի ռեգեներատիվ-բորբոքային բնույթ: Այսպես, դիտարկման 3-րդ օրը փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ լեյկոցիտների քանակության նվազման ֆոնի վրա (38,05±3,21՝ ստուգիչում՝ 53,9±3,27, p<0,005), նկատելիորեն ավելացավ լիմֆոցիտների քանակությունը (23,0±1,53, ստուգիչում՝ 13,85±1,1, p<0,0005): Համանման օրինաչափություն էր դիտվում նաև փորձարկվող և ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ դիտարկման 5-րդ օրվա ցիտոլոգիական ցուցանիշների արդյունքները համեմատելիս: Լիմֆոցիտների պարունակությունը փորձարկվող խմբի մոտ կազմում էր 53,2±3,34՝ ստուգիչի համեմատ (22,75±1,29, p<0,0005), իսկ լեյկոցիտների պարունակությունը նվազել էր գրեթե 2 անգամ (13,4±1,74, ստուգիչում՝ 25,2±2,24, p<0,0005): «Արմենիկում» մածուկի կիրառման պայմաններում նկատելիորեն նվազել էր վերքային էքսուդատի մանրէային

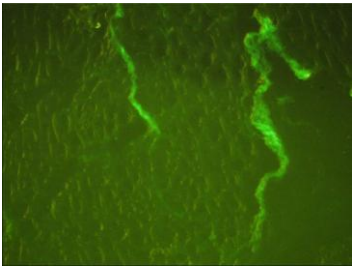
աղտոտվածությունը: Արտահայտված հակամանրէային ակտիվության շնորհիվ՝ տեղային բորբոքային պրոցեսի արդեն իսկ վաղ փուլերում բարձրացել էր մակրոֆագերի և լեյկոցիտների ֆագոցիտար ակտիվությունը:

Վերքի փափուկ հյուսվածքներից պատրաստված կրիոստատային հատածների մորֆոլոգիական հետազոտության արդյունքում պարզվեց, որ «Արմենիկում» մածուկի կիրառման պայմաններում (փորձարկվող խումբ) տեղային բորբոքային պրոցեսի վաղ փուլերում (դիտարկման 3-րդ օրը) տեղի է ունենում ֆիբրոբլաստիկ շարքի բջիջների նկատելի աշխուժացում, որը ուղեկցվում էր վերականգնողական-պրոլիֆերատիվ պրոցեսների վաղ ակտիվացմամբ, գրանուլացիոն հյուսվածքի դիֆուզ աճով և նրա հետագա հասունացմամբ փխրուն շարակցական հյուսվածքի: Ի տարբերություն ստուգիչ խմբի, փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ վերքի լավացումը տեղի էր ունենում զգալիորեն ավելի վաղ՝ դիտարկման արդեն իսկ 5-րդ օրը, սուբստիտուցիայի ճանապարհով:

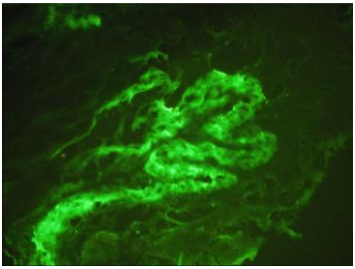
Աերոբային թարախային վերքում ֆիբրոնեկտինի և eNOS պարունակության որոշումը՝ «Արմենիկում» մածուկի տեղային կիրառման պայմաններում: Ինչպես ցույց տվեցին իմունամորֆոլոգիական փորձաքննության արդյունքները, ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ էքսպերիմենտի 3-րդ օրը թարախային վերքի փափուկ հյուսվածքներում հանդիպում էին միայն եզակի հատվածներ (թարախային վերքի մակերեսային հատվածներում, գծային կողմնորոշված կոլագենային թելերի դիստրոֆիայի և քայքայման օջախներում), որոնցում հայտնաբերվում էր ֆիբրոնեկտին-դրական նյութ: Մինչդեռ փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ տեղային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի արդեն իսկ 3-րդ օրը հայտնաբերվեցին ֆիբրոնեկտինի կուտակումների ընդարձակ օջախներ թարախային վերքի փափուկ հյուսվածքներում (Նկ.2):

ա  բ 

Նկ. 2. Ֆիբրոնեկտինի առկայությունը ստուգիչ և փորձարկվող խմբերի կենդանիների թարախային վերքում դիտարկման 3-րդ օրը: Լումինեսցենտային միկրոսկոպիա: Օբ 10, օկ 10:
ա. Ստուգիչ խումբ: Վերքի մակերևութային շերտերում բորբոքային ինֆիլտրատի բջիջների թույլ յուրահատուկ ֆլյուորեսցենցիա:
բ. Փորձարկվող խումբ: Յուրահատուկ ինտենսիվ ֆլյուորեսցենցիա կառուցվածքը պահպանած թելերի կառույցների երկայնքով:



ա



բ

Նկ. 3. Ֆիբրոնեկտինի առկայությունը ստուգիչ և փորձարկվող խմբերի կենդանիների թարախային վերքում դիտարկման 5-րդ օրը: Լումինեսցենտային միկրոսկոպիա: Օբ 10, օկ 10:

ա. Ստուգիչ խումբ: Չափավոր սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիա վերքի մակերևութային շերտերում առանձին գծայնորեն կողմնորոշված կոլագենային թելերի երկայնքով

բ. Փորձարկվող խումբ: Վերքի խորը շերտերում ինտենսիվ յուրահատուկ ֆլյուորեսցենցիա նորագոյացած կոլագենային խրձերի երկայնքով և նրանց մակերևույթին:

Փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ էքսպերիմենտի 5-րդ օրը վերքի փափուկ հյուսվածքներում գրանցվեցին ֆիբրոնեկտինի առավել բարձր ցուցանիշներ, որոնք 3 անգամ գերազանցում էին դիտարկման նույն ժամանակահատվածում ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ ֆիբրոնեկտինի սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիայի սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիայի մակերեսային ցուցանիշներին (*Նկ. 3, Աղ. 1*):

Աղյուսակ 1.

Վերքի փափուկ հյուսվածքներում ֆիբրոնեկտինի սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիայի մակերեսային ցուցանիշները (ՖՊՄ)՝ «Արմենիկում» մածուկի տեղային կիրառման պայմաններում

Հետազոտվող խմբերը (n=20)	Դիտարկման փուլերը		
	3-րդ օրը	5-րդ օրը	8-րդ օրը
Ստուգիչ	10,07±0,61	17,36±0,62	40,5±1,72 p_2<0,0005
Փորձարկվող	16,26±0,89 p_1<0,0005	52,2±1,83 p_1<0,0005	25,96±1,21 p_1<0,0005 p_3<0,0005

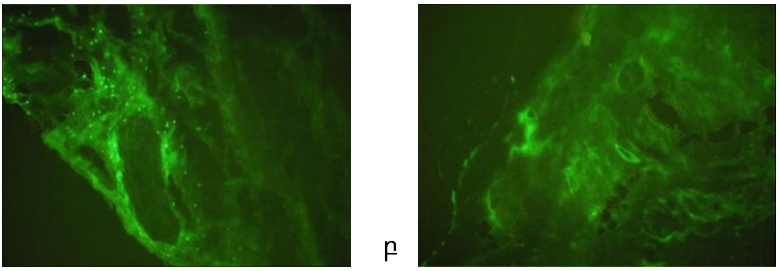
Նշում. p_1 – փորձարկվող խմբերի ցուցանիշների հավաստիությունը ստուգիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշների նկատմամբ:

p_2 – էքսպերիմենտի 8-րդ օրը ստուգիչ խմբի ցուցանիշի հավաստիությունը էքսպերիմենտի 5-րդ օրը ստուգիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշի նկատմամբ

p_3 – էքսպերիմենտի 8-րդ օրը փորձարկվող խմբի ցուցանիշի հավաստիությունը էքսպերիմենտի 5-րդ օրը փորձարկվող խմբի համապատասխան ցուցանիշի նկատմամբ:

Ամբողջ վերը շարադրվածը վկայում է այն մասին, որ «Արմենիկում» մածուկի կիրառման պայմաններում տեղային բորբոքային պրոցեսի ընթացքի արդեն իսկ վաղ փուլերում տեղի են ունենում ֆիբրոնեկտինի «զանգվածային» կուտակումներ արտաբջջային մատրիքսում, ինչով էլ պայմանավորված է կոլագենագոյացման ինտենսիվացման պրոցեսը:

Վերքի փափուկ հյուսվածքներում *eNOS* պարունակության որոշման արդյունքները ցույց տվեցին, որ ստուգիչ խմբի կենդանիների մոտ էքսպերիմենտի 3-րդ և 5-րդ օրերին *eNOS*-դրական նյութի առկայությունն ինտենսիվ սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիայի տեսքով որոշվում էր զարկերակա-երակային ծնկան միկրոանոթների մեծամասնությունում: Ի տարբերություն ստուգիչ խմբի, փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ էքսպերիմենտի նույն ժամկետում որոշվում էր միայն չափավոր և/կամ թույլ սպեցիֆիկ լուսարձակում առանձին միկրոանոթների երկայնքով (Նկ. 3):



Նկ.3. eNOS-դրական նյութի առկայությունը ստուգիչ և փորձարկվող խմբերի կենդանիների թարախային վերքում դիտարկման 5-րդ օրը: Լուսինեսցենտային միկրոսկոպիա: Օբ 10, օկ 10:

ա. Ստուգիչ խումբ: Ինտենսիվ սպեցիֆիկ հոմոգեն և մանր հատիկային լուսարձակում բորբոքային ինֆիլտրատի բջիջներում և երակիկի պատում:

բ. Փորձարկվող խումբ: Չափավոր և թույլ սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիա միկրոանոթների պատերում վերքի մակերևութային շերտերում:

Աղյուսակ 2.

Վերքի փափուկ հյուսվածքներում eNOS սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենցիայի մակերեսային ցուցանիշները (ՖՊՄ)" «Արմենիկում» մածուկի տեղային կիրառման պայմաններում

Հետազոտվող խմբերը (n=20)	Դիտարկման փուլերը		
	3-րդ օրը	5-րդ օրը	8-րդ օրը
Ստուգիչ	36,05±1,51	27,7±1,59	16,84±1,4 p_2<0,0005
Փորձարկվող	21,69±0,93 p_1<0,0005	15,38±0,97 p_1<0,0005	9,94±0,49 p_1<0,0005, p_3<0,0005

Նշում. p_1 – փորձարկվող խմբերի ցուցանիշների հավաստիությունը ստուգիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշների նկատմամբ:

p_2 – էքսպերիմենտի 8-րդ օրը ստուգիչ խմբի ցուցանիշի հավաստիությունը էքսպերիմենտի 5-րդ օրը ստուգիչ խմբի համապատասխան ցուցանիշի նկատմամբ

p_3 – էքսպերիմենտի 8-րդ օրը փորձարկվող խմբի ցուցանիշի հավաստիությունը էքսպերիմենտի 5-րդ օրը փորձարկվող խմբի համապատասխան ցուցանիշի նկատմամբ:

Ինչպես ցույց տվեցին մանրադիտակային անալիզի քանակական ֆլյուորեսցենցիայի արդյունքները *(Աղ. 2)*, փորձարկվող խմբի կենդանիների մոտ հետազոտության ամբողջ ժամանակահատվածում հայտնաբերվել է *eNOS*-դրական նյութի ցածր առկայություն վերքի փափուկ հյուսվածքներում:

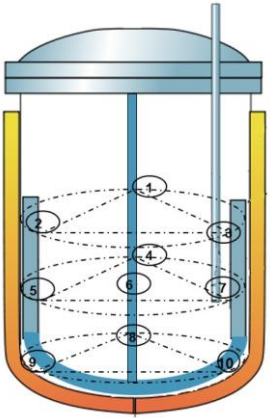
Այսպիսով, Արմենիկում մածուկը, երկարատև պահպանելով յոդը վերքային մակերևույթին՝ դրսևորում է արտահայտված մանրէասպան ազդեցություն վերքում պերսիստացող միկրոֆլորայի վրա: Դրա արդյունքում տեղի է ունենում վերքի մաքրում պերսիստացող միկրոօրգանիզմներից: Մածուկի կիրառման պայմաններում խթանվում են ֆիբրոնեկտինի *in situ* սինթեզի պրոցեսները և ընկճվում ազոտի օքսիդի սինթեզի պրոցեսները, որոնց արդյունքում տեղի է ունենում վերականգնողական-պրոլիֆերատիվ պրոցեսների վաղ ակտիվացում և կոլագենագոյացման խթանում:

«Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացի վալիդացումը: «Արմենիկում» մածուկի արտադրության ներդնման համար իրականացվել է մածուկի արտադրական գործընթացի վալիդացում համաձայն արդի Պատշաճ Արտադրական Գործունեության (ՊԱԳ) պահանջների: Այդ նպատակով արտադրության յուրաքանչյուր փուլի ընթացքում որոշվել են գործընթացի կրիտիկական ցուցանիշները, որոնց փոփոխությունը կարող է ազդեցություն ունենալ արտադրանքի որակի վրա:

Օժանդակ նյութերի հալույթի ստացման փուլում կրիտիկական է համարվում հալեցման ջերմաստիճանը, որը սահմանվել է 70°C ՝ հաշվի առնելով օժանդակ նյութերի հալման ջերմաստիճանները՝ ըստ ավելի բարձր հալման ջերմաստիճան ունեցողի:

Մինչ ակտիվ բաղադրիչի ավելացումը պատրաստված հալույթը հովացվում է մինչև 40°C: Ջերմաստիճանը սահմանվել է՝ հիմնվելով օժանդակ նյութերի՝ հալված վիճակում մնալու և ակտիվ բաղադրիչի՝ նույն ջերմաստիճանում չքայքայվելու և/կամ հատկությունները չփոխելու վրա:

Վերջնական մածուկի ստացման փուլում խառնման ժամանակը համարվում է կրիտիկական, քանի որ դրանից կախված է մածուկում ակտիվ բաղադրիչի պարունակության համասեռությունը: Խառնման ժամանակը սահմանելու նպատակով խառնման գործընթացում յոդ-դեքստրին կոմպլեքսի ավելացումից 40, 50, 60, 70 րոպե հետո նմուշառվել է 1-ական գրամ մածուկ պատրաստման սարքի տարբեր մասերից՝ 3-ական նմուշ վերին, միջին և ստորին մակարդակներից և մեկ նմուշ մեջտեղից (յուրաքանչյուր ժամանակային կետի համար՝ 10-ական նմուշ): Ակտիվ բաղադրիչի (I_2) պարունակության համար ընդունելի է սահմաններն են՝



Նկ.4. 1-10 թվերով նշված են ռեակտորում պատրաստված մածուկից նմուշառման կետերը:

յուրաքանչյուր նմուշում պետք է պարունակվի 90-110% (12,240-ից միչև 14,960մգ), ընդ որում, RSD պետք է լինի ոչ ավելին, քան 4,2%:

Աղյուսակ 3.

Համասեռության ստուգում (I_2 քանակական պարունակություն) խառնումից հետո նշված ժամանակամիջոցում

Ժամանակ	40ր	50ր	60ր	70ր
Խմբաքանակ N _00006				
Միջին,մգ	12,84	13,17	13,08	13,78
RSD%	4,8	3,7	3,4	3,5
Խմբաքանակ N _00007				
Միջին,մգ	12,97	13,59	13,88	13,09
RSD%	5,1	3,4	3,8	3,7
Խմբաքանակ N _00008				
Միջին,մգ	13,87	13,06	13,48	13,56
RSD%	4,9	4,1	3,5	3,8

Ինչպես երևում է աղյուսակ 3-ից, 40ր խառնումից հետո քանակական պարունակությունը համապատասխանում է սպեցիֆիկացիային, սակայն հարաբերական ստանդարտ շեղման (**RSD**%) արժեքը 3 խմբաքանակի դեպքում բավարար չէ (4,9, 5,1%): 50ր և 60ր խառնումից հետո 3 խմբաքանակների դեպքում էլ արդյունքները բավարար են: 70ր-ից հետո RSD%-ի փոփոխություն չի արձանագրվում, հետևաբար՝ ակտիվ բաղադրիչի ավելացումից հետո խառնումը սահմանվում է 50-60 րոպե:

Պարկուճավորման գործընթացի սկզբում, մեջտեղում և վերջում վերցվել են նմուշներ՝ լցավորված զանգվածի ստուգման (ընդունելի սահման՝ ոչ պակաս 25գ, թույլատրելի շեղում՝+ 5% (25.0-26.25գ)) և պարկուճներում I_2-ի քանակական պարունակության որոշման համար (ընդունելի սահման՝ 90-110%): Երեք խմբաքանակների դեպքում էլ արդյունքները բավարարել են սպեցիֆիկացիայի պահանջները: Նշված երեք խմբաքանակների համար մեր կողմից իրականացվել են հետարտադրական կայունության փորձաքննություններ՝ պիտանելիության ողջ ժամանակահատվածում (2 տարի):

Իրականացված կրիտիկական ցուցանիշների որոշման, ներարտադրական փորձարկումների արդյունքները վկայում են այն մասին, որ «Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացը իրականացվում է ՊԱԳ սահմանված ցուցանիշներին, սպեցիֆիկացիաներին և որակի բնութագրերին համապատասխան, և թույլ է տալիս շարունակաբար և կայուն կերպով ստանալ որակի պահանջներին համապատասխան արտադրանք, հետևաբար «Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացը վալիդացված է:

ԵԶՐԱՀԱՆԳՈՒՄՆԵՐ

1. Առնետների մոտ 10,2մգ/կգ և 5,1մգ/կգ դեղաչափերով ընդհանուր յոդ պարունակող մածուկների կիրառման և յոդիդ անիոնի դեղակինետիկայի համեմատության արդյունքում պարզվել է, որ «Արմենիկում» մածուկում ընդհանուր յոդի ավելի բարձր դեղաչափի կիրառումը (10,2մգ/կգ) թույլ է տալիս պահպանել յոդի օպտիմալ խտությունը վերքային մակերեսին ավելի երկար ժամանակ, հետևաբար նպաստելով մածուկի դեղաբանական ազդեցության մեծացմանը:
2. Փորձարարորեն առաջացված աերոբային վերքը «Արմենիկում» մածուկով մշակման պայմաններում բացահայտվել է նրա մանրէասպան ազդեցությունը *in situ* պերսիստացող գրամ-դրական և գրամ-բացասական միկրոօրգանիզմների նկատմամբ, որի արդյունքում նկատելիորեն ակտիվանում են ավարտուն ֆագոցիտոզի պրոցեսները՝ ուղղված անկենդան հյուսվածքների և միկրոօրգանիզմների էլիմինացիային:
3. Վերքային մակերևույթի մշակումն «Արմենիկում» մածուկով արդեն իսկ տեղային բորբոքային պրոցեսի վաղ փուլերում ուղեկցվում է մակրոֆագալեյկոցիտային և ֆիբրոբլաստիկ շարքի բջիջների կողմից ֆիբրոնեկտինի սինթեզի պրոցեսների ուժեղացմամբ, ինչն, իր հերթին, հանգեցնում է վերականգնողական-պրոլիֆերատիվ պրոցեսների ակտիվացմանը՝ վերքի հետագա լավացմամբ սուբստիտուցիայի ճանապարհով:
4. Փորձարկվող «Արմենիկում» մածուկը միջնորդավորված ճանապարհով՝ ֆիբրոնեկտինի սինթեզի ակտիվացման միջոցով, հանգեցնում է կոլագենագոյացման պրոցեսների նկատելի ակտիվացմանը, վերքի փափուկ հյուսվածքներում *eNOS* սինթեզի միաժամանակյա նկատելի արգելակմամբ:
5. Հաստատված են վերքային բորբոքային պրոցեսի վրա «Արմենիկում» մածուկի մոդուլացնող ազդեցության՝ նախկինում անհայտ մեխանիզմներ, որոնք թույլ են տալիս մեր կողմից փորձարկվող «Արմենիկում» մածուկը կիրառել աերոբային թարախային վերքերի համալիր սիմպտոմատիկ և պաթոգենետիկ բուժման մեջ:
6. Միջազգային ՊԱԳ պահանջներին համապատասխան կատարված երեք խմբաքանակների ներարտադրական փորձարկումների և վերլուծությունների արդյունքում վալիդացվել է «Արմենիկում» մածուկի արտադրական գործընթացը՝ հաստատելով, որ այն իրականացվում է ՊԱԳ սահմանված ցուցանիշներին, ներքին հատկորոշիչներին համապատասխան, և թույլ է տալիս շարունակաբար և կայուն կերպով ստանալ որակի պահանջներին համապատասխան արտադրանք:

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՏՊԱԳՐՎԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

1. Абраамян А., Мурадян Р., Казарян А., Оганесян А. “Фармакокинетика препарата “Арменикум паста для наружного применения”. // *ВЕСТНИК, Санкт-Петербург, 2009, Т. 14 N 4, вып. 2, стр. 75-78.*

2. Ghazaryan A., Topchyan H., Hovhannisyan A., Abrahamyan H., Muradyan R. “The pharmacokinetics of Armenicum paste tested on rats”. // *The New Armenian Medical Journal, 2010, Vol. 4 N 1, Yerevan, p. 48-49.*

3. Казарян А., Топчян А., Акопян И., Оганесян А. “Сравнительный анализ антибактериального действия препаратов для наружного применения, содержащих комплексы йода”. // *Медицинская наука Армении НАН РА, 2010 N 3, стр. 90-95.*

4. Казарян А. “Цитограмма и микробная обсемененность раневого экссудата в экспериментально индуцированной гнойной ране в условиях местного применения препарата “Арменикум”. // *Вопросы теоретической и клинической медицины. Научно-практический журнал, 2015, Т. 18, N 3 (99), стр. 34-38.*

5. Казарян А.“Влияние пасты “Арменикум” на течение региональных репаративно-пролиферативных процессов в экспериментально индуцированной аэробной гнойной ране”. // *Գիտական հոդվածների ժողովածու նվիրված ԵՊԲՀ գիտահետազոտական կենտրոնի կազմավորման 50-ամյակին, 2014, էջ 111-115*

6. Ghazaryan A. “Fibronectin-Dependent Mechanisms Involved in Fibroplastic Process Activation in Aerobic Purulent Wound under Armenicum Paste Topical Treatment”. //*The New Armenian Medical Journal. Vol. 9 (2015), N 1, p. 90-94.*

7. Ghazaryan A., Avagyan S., Topchyan H., Zilfyan A. “Shifts in the Content of Somatostatin in Blood Serum of Intact Rats under Experimentally Induced Wound Process with the Application of "Armenicum" Drug and Paste”. // *The New Armenian Medical Journal. Vol. 10 (2016), N 1, p. 53-56*

8. Zilfyan A., Avagyan S., Ghazaryan A. “The Effect of Armenicum Paste on the Course of Wound Process” Monograph. // *LAP LAMBERT Academic Publishing, Germany, 2016, 93 p.*

КАЗАРЯН АНИ ВАЧАГАНОВНА

ВЛИЯНИЕ ПАСТЫ “АРМЕНИКУМ” НА ТЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА АЭРОБНОЙ ГНОЙНОЙ РАНЫ

РЕЗЮМЕ

Проблема раневой инфекции и по сей день остается весьма актуальной в современной медицине. Во многих странах мира констатировано отсутствие тенденции к уменьшению числа больных с региональными гнойно-воспалительными заболеваниями, что связано в первую очередь с приобретением резистентности персистирующей в ране микрофлоры к антибактериальным препаратам, малой эффективностью общепринятых методов терапии, длительностью сроков лечения.

Отечественный препарат “Арменикум”, предложенный для лечения ран, представляет собой комплексный препарат, в состав которого, в качестве действующих веществ, входят, в частности, йод и α-декстрин. Антибактериальные эффекты препарата в основном связываются с наличием в его составе йод- декстрин комплекса (йодофор). Так, йод-высокополимеры обладают широким спектром биологического действия, незначительными, не зависимыми от вида возбудителей колебаниями летальных для микробов доз, возможностью кратковременного лечения, исключающего адаптацию микробов и появление их устойчивых форм, отсутствием кумулятивного эффекта и токсичности.

Для установления оптимальной дозы общего йода, содержащего в пасте “Арменикум”, проводились исследование и сравнение фармакокинетики йодид аниона в крови крыс после нанесения на поверхность раны пасты со содержанием 5,1мг/кг и 10,2мг/кг общего йода. Полученные результаты позволяют заключить, что фармакокинетика йодид аниона у животных после нанесения на раневую поверхность пасты “Арменикум” характеризуется медленным всасыванием в системный кровоток, при этом при нанесении пасты с дозой общего йода 10,2мг/кг, основной активный ингредиент пасты – йод, медленней проникает в организм и более длительное время остается на раневой поверхности, обеспечивая более выраженный фармакологический эффект.

С комплексных (морфологических, морфометрических и иммуноморфологических) позиций нами было изучено влияние пасты “Арменикум” (с дозой общего йода-10,2мк/кг, установленной фармакокинетичесними исследованиями)

на течение раневого процесса в эксперименте. Модель аэробной раны воспроизводилась на крысах, согласно схеме, предложенной Оганесяном С.С. и соавт. (1987). Задачей исследования послужили аспекты, связанные с влиянием пасты “Арменикум” на характер и течение регионального воспалительного процесса, включая анализ клеточного состава экссудата (цитограмму), структурные изменения в мягких тканях раны, топичесние особенности распределения фибронектина и *eNOS* в клеточных и неклеточных компонентах соединительной ткани из области раны.

Проведенными исследованиями было установлено, что в условиях обработки экспериментально индуцированной аэробной раны пастой “Арменикум” выявлен ее бактерицидный эффект в отношении персистирующих *in situ* грампозитивных и грамнегативных микроорганизмов, в результате которого заметно активируются процессы завершенного фагоцитоза. Обработка раневой поверхности пастой “Арменикум” уже на ранних этапах течения регионального воспалительного процесса сопровождалась усилением процессов синтеза фибронектина клетками макрофагально-лейкоцитарного и фибробластического ряда, что, в свою очередь, приводило к активации репаративно-пролиферативных процессов с последующим заживлением раны путем субституции. Апробируемая нами паста “Арменикум” опосредованным путем, посредством активации синтеза фибронектина, приводила к заметной активации процессов коллагенообразования, при одновременно заметной ингибиции синтеза *eNOS* в мягких тканях раны.

Установлены ранее неизвестные механизмы модулирующего влияния пасты “Арменикум” на течение раневого воспалительного процесса, которые допускают применение апробируемого нами препарата “Арменикум” в комплексной симптоматической и патогенетической терапии аэробных гнойных ран.

Для внедрения в производство пасты “Арменикум” проводилась валидация технологического процесса изготовления пасты, в соответствии с критериями *GMP "Guide to Good Manufacturing Practice.for Medicinal Products, PIC/S 2015”*, в результате которой было доказано, что процесс производства пасты “Арменикум”, выполняемый в рамках установленных параметров, осуществляется эффективно и с воспроизводимыми результатами и обеспечивает перманентное получение лекарственного средства, соответствующего установленным требованиям спецификаций и характеристикам качества.

ANI V. GHAZARYAN

THE EFFECT OF "ARMENICUM" PASTE ON THE COURSE OF AEROBIC PURULENT WOUND PROCESS

SUMMARY

The problem of wound infection up to date stays highly urgent in modern medicine. Many countries of the world state the absence of tendency to reducing the number of people with regional purulent-inflammatory diseases, which is attributed first of all to the tolerance of wound microflora to antibacterial drugs particularly to antibiotics, then to the low efficiency of the conventional therapy and the long-term periods of treatment.

"Armenicum" is a complex drug, which contains iodine and α-dextrin complex as active ingredients. The antibacterial effects of the drug are generally attributed to the presence of iodine-dextrin composition (iodophor). Thus, iodophors have a broad spectrum of biological action, minor, independent from the pathogen type, fluctuations of lethal doses for microbes, short-term treatment opportunity, excluding the microbes' adaptation and the development of their resistant forms, absence of cumulative effects and toxicity.

For establishing the optimal dose of total iodine containing in "Armenicum" paste, comparison pharmacokinetic studies in rats were carried out after application on wound surface "Armenicum" paste containing 5,1mg/kg and 10,2mg/kg total iodine. The results let us conclude that the pharmacokinetics of iodide anione in rats after application on wound surface, is characterized by slow absorption into the blood, wherein while applicating the paste containg 10,2mg/kg total iodine, the active ingredient- iodine is absorbed slower in the organism and remains on the wound surface for longer time providing more pronounced pharmacological effect.

From complex positions (morphological, morphometric and immunomorphological) the effect of "Armenicum" paste (containg 10,2mg/kg total iodine) on the course of a regional inflammatory process has been observed on an induced model of aerobic purulent wound in laboratory rats. The model of a purulent wound was

induced in rats according to scheme proposed by Hovhannisyan S.S. et al. (1987). The aim of the study were aspects related with the influence of "Armenicum" paste on the course and progress of a regional inflammatory process, including the cytological analysis of wound exudate (cytogram), structurical changes in wound soft tissues, topical characteristics of localization of fibronectin and *eNOS* in cellular and noncellular components of connective tissue from the wound area.

Our studies found out that topical application of "Armenicum" paste has significant bactericidal effect on the resident opportunistic gram-negative and gram-positive microorganisms persistent in the wound as a result of which processes of complete phagocytosis have been notably activated. The application of "Armenicum" paste on the wound surface was accompanied with noticeable activation of *in situ* processes of fibronectin synthesis by macrophage-leukocyte and fibroblastic lineage cells, which in turn led to the early activation of regional reparative-proliferative processes with further wound healing by substitution. Due to the intensified fibronectin synthesis at the early stages of the course of the regional inflammatory process, stimulation of collagenogenesis, with simultaneously noticeable inhibition of *eNOS* synthesis in wound soft tissues was noticed.

Previously unknown mechanisms of modulating effect of "Armenicum" paste on the course of wound healing have been found to allow using "Armenicum" paste in complex symptomatic and pathogenetic therapy of aerobic purulent wounds.

For introduction of "Armenicum" paste into production the validation of technological processes of its production was carried out, according to principles of *GMP "Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products, PIC/S 2015",* as a result of which the production process of "Armenicum" paste, executed within the established parameters, proved to be carried out effectively, with reproducible results ensuring persistent drug conformity to the specified requirements of specifications and quality characteristics.