

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ
БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НА ФУНКЦИЮ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ И ОЦЕНКА
ЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА НА МОДЕЛИ ОТРАВЛЕНИЯ
МОРСКИХ СВИНОК ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЕМ**

Кряжевских А.А., Субботина С.Н., Федонюк В.П., Кряжевских А.А., Иванов И.М.

Федерально государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации,

195043, Санкт-Петербург, Лесопарковая улица, дом 4

Резюме.

В статье приведены результаты изучения влияния ингаляционного применения бутирилхолинэстеразы (БХЭ) на функцию внешнего дыхания морских свинок. Показано, что фермент в течение первых 25 мин ингаляции способствует значительному снижению минутного объема дыхания, которое полностью восстанавливается через 30 мин после окончания ингаляции. Эффективность профилактического использования БХЭ оценена на животных трех опытных групп, отличавшихся по интенсивности воздействия токсиканта. Показано, что профилактическое применение БХЭ при ингаляционном отравлении морских свинок модельным фосфорорганическим соединением (ФОС) – диизопропилфторфосфатом (ДФФ) в летальных дозах позволяет существенно снизить выраженность симптоматики отравления и летальные исходы. Так, при воздействии ДФФ в дозе 1 LD₅₀ БХЭ предотвращала развитие судорог и гибель животных в остром постинтоксикационном периоде. При увеличении поглощенной дозы ФОС до 1 LD₆₇ терапия БХЭ способствовала увеличению времени развития судорожного синдрома. При отравлении морских свинок ДФФ в дозе 1 LD₁₀₀ применение фермента позволило существенно повысить выживаемость животных. Профилактическое использование БХЭ позволяет предотвратить развитие проявлений дыхательной недостаточности у отравленных животных. На фоне терапии БХЭ такие характеристики дыхания, как минутный объем дыхания, дыхательный объем и интегральный показатель бронхоконстрикции $Penh$ в ходе ингаляционного воздействия ФОС оставались на уровне исходных значений.

Ключевые слова: бутирилхолинэстераза, диизопропилфторфосфат; ингаляционное введение; функция внешнего дыхания; защитная эффективность; отравление фосфорорганическим соединением

**ANALYSIS OF THE STUDY OF THE USE BUTYRYLCHOLINESTERASE ON
THE FUNCTION OF EXTERNAL RESPIRATION AND EVALUATE OF THE
PROTECTIVE EFFECTIVENESS OF THE ENZYME IN THE MODEL OF POISONING
OF GUINEA PIGS WITH AN ORGANOPHOSPHATE COMPOUND**

Kryazhevskikh A.A., Subbotina S.N., Fedonyuk V.P., Kryazhevskikh A.A., Ivanov I.M.

*State Scientific Research Test Institute of the military medicine Defense Ministry of the
Russian Federation,*

195043, Saint Petersburg, Forest park street, house 4

Summary.

The article presents the results of studying the effect of inhalation use of butyrylcholinesterase (BChE) on the function of external respiration in guinea pigs. It was shown that the enzyme during the first 25 minutes of inhalation contributes to a significant decrease in the minute volume of respiration, which is completely restored within 30 minutes after the end of inhalation. The effectiveness of the prophylactic use of BChE was assessed in animal three experimental groups that differed in the intensity of exposure to the toxicant. It has been shown that the prophylactic use of BChE in case of inhalation poisoning of guinea pigs with organophosphate compound (OP) – diisopropylfluorophosphate (DFP) in lethal doses can significantly reduce the severity of symptoms of poisoning and lethal outcomes. Thus, when exposed to OP at a dose of 1 LD₅₀, BChE prevented the development of seizures and death of animal in the acute post-intoxication period. With an increase in the absorbed dose of DFF to 1 LD₆₇, BChE therapy contributed to an increase in the time of development of the convulsive syndrome. When poisoning guinea pigs whin OP in dose of 1 LD₁₀₀, the use of the enzyme made it possible to significantly increase the survival rate of animals. In addition, the prophylactic use of BChE makes it possible to prevent the development of manifestations of respiratory failure in poisoned animal. On the background of BChE therapy, such respiratory characteristics as minute respiratory volume, tidal volume, and the integral index of bronchoconstriction Penh during inhalation exposure to OPs remained at the level of initial values.

Key words: butyrylcholinesterase; diisopropylfluorophosphate; inhalation administration; respiratory function; protective effectiveness; organophosphate poisoning

Введение. Многие фосфорорганические соединения (ФОС) обладают высокой токсичностью и способны вызывать интоксикации тяжёлой и крайне тяжёлой степени, приводящие к летальным исходам при отсутствии лечения [1, 2]. Известно, что основной механизм действия ФОС связан с угнетением активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ), последующим нарушением процесса гидролиза ацетилхолина (АХ) и перевозбуждением

холинергических структур [3-5]. ФОС оказывают существенное влияние на функцию дыхания и структуры дыхательных путей, вызывая повышение уровня АХ в легочных мускариновых рецепторах и способствуя изменению статических и динамических показателей дыхания, развитию лёгочных аномалий, проявляющихся, в частности, в обструкции дыхательных путей [6]. Выраженность нарушений дыхательной системы при воздействиях ФОС можно разделить на 3 степени тяжести. При первой степени развивается бронхоспазм и бронхорея; второй – бронхообструктивный синдром, брадикардия, циркуляторная гипоксия; третья (тяжёлая) степень характеризуется тканевой гипоксией и метаболическим ацидозом. Кроме того, при отравлении ФОС нарушается нейромышечная передача, что способствует развитию осложнений со стороны дыхательной системы, таких как увеличение содержания альвеолярной жидкости [7-9].

В рамках совершенствования профилактики и лечения отравлений ФОС в последние годы перспективным считается направление разработки антидотов, нейтрализующих ингибиторы холинэстераз (ХЭ) в кровотоке до момента достижения ими биомишеней за счёт иммобилизации или каталитического расщепления, так называемых «биочистильщиков» [10-13]. Экспериментально получены перспективные биочистильщики на основе широкого спектра нативных ферментов: АХЭ, бутирилхолинэстеразы (БХЭ), карбоксилэстеразы и пр. [14, 15]. Применение экзогенных ХЭ позволяет не только увеличить эффективность профилактики и терапии, расширить спектр защитного действия антидотов, но и уменьшить побочное действие, которое присуще обратимым ингибиторам ХЭ [16].

В качестве одного из перспективных биочистильщиков при отравлении рядом ФОС рассматривают БХЭ человека, относящуюся к стехиометрическим биоскавенджерам [17-19]. Результаты исследований показали, что БХЭ при её профилактическом применении (внутримышечно или внутрибрюшинно) морским свинкам, отравленным нервнопаралитическими агентами, проявляет выраженный защитный эффект [20]. Однако парентеральное введение фермента сопряжено с трудностями их применения. Преимущества ингаляционного введения БХЭ заключаются в том, что такой способ применения позволяет в короткие сроки доставить фермент к органу-мишени. Кроме того, по литературным данным, при ингаляционном поступлении БХЭ равномерно распределяется в органах дыхательной системы и формирует условный защитный слой, который связывает токсикант *in situ* и предотвращает его поступление в системный кровоток. Актуальность разработки ингаляционной лекарственной формы БХЭ в России подтверждается и тем, что за рубежом уже разработаны ингаляционные рекомбинантные формы БХЭ человека, предназначенные для профилактики и лечения отравлений ФОС [21], и показана возможность поддержания необходимого уровня фермента в легких при помощи ингалятора «MicroSprayer» [22].

К настоящему времени имеется достаточно большой объем экспериментальных и клинических данных о патофизиологических процессах, развивающихся в системе дыхания после воздействия ФОС [4, 23, 24], однако защитное и специфическое действие БХЭ на дыхательную систему при её профилактическом применении изучено недостаточно. Указанные обстоятельства свидетельствуют о необходимости проведения соответствующих экспериментальных исследований.

Цель исследования. Провести оценку влияния БХЭ на функцию внешнего дыхания морских свинок при ингаляционном пути поступления и определить защитную эффективность фермента на модели острого отравления диизопропилфторфосфатом.

Материалы и методы. Исследования выполнены на морских свинках, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Эксперименты проводили в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г N 199н). Животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Все опытные и контрольные животные были взяты из одного привоза и прошли карантин в течение 14 суток.

В работе исследовали эффекты фермента БХЭ ТУ 2639-005-12057761-14, Класс IV, Серия 1-19, ООО «НПК «Миламед», Россия. Содержимое флакона (лиофилизат в количестве 325 мг с удельной активностью фермента $A_{уд} \approx 2,45$ Ед/мг) растворяли в 6 мл воды. В качестве модельного ФОС использовали диизопропилфторфосфат (субстанция «Sigma Aldrich», США).

Эффекты БХЭ и ДФФ оценивали при ингаляционном введении в камерах с воздействием только на голову животного в режиме динамической затравки. Для перевода рабочего раствора фермента (в объеме 6 мл) в состояние аэрозоля использовали систему генерации аэрозоля (Emka Technologies). Условия ингаляции БХЭ предполагали скорость аспирации воздуха из камеры 2 л/мин, масс-медианный аэродинамический размер частиц аэрозоля 4,0-6,0 мкм, время ингаляционного воздействия 16,2-23,8 мин. В течение всего периода ингаляционного воздействия проводили регистрацию показателей функции внешнего дыхания (ФВД): дыхательный объем (ДО), частота дыхания (ЧД), минутный объем дыхания (МОД), пиковая скорость вдоха/выдоха ($ПС_{вд.}/ПС_{выд.}$), время вдоха/выдоха ($T_{вд.}/T_{выд.}$), продолжительность паузы на выдохе (ЕЕР), интегральный показатель бронхоконстрикции (Penh). Критерием развития бронхоспазма считали значение показателя Penh более 1,2 [25].

Ингаляцию ДФФ проводили при тех же условиях через 30 мин после ингаляции БХЭ. Варьирование интенсивности воздействия поражающего фактора осуществляли временем ингаляции с учетом индивидуальных биометрических показателей морской свинки (МОД и массы тела).

В процессе ингаляции осуществляли пробоотбор для определения концентрации фермента и токсиканта в камере и расчета поглощенной дозы. Для оценки концентрации БХЭ в камере дважды в течение ингаляции из камеры забирали аэрозоль объемом 100 мл – через 5 и 15 мин после начала ингаляции. Пробы аэрозоля растворяли в 10 мл 50 мМ буферного раствора Tris*HCl. Активность БХЭ определяли модифицированным методом Элмана. Концентрацию фермента в растворе оценивали с помощью анализатора Chem Well Combo 2910. По результатам двух измерений рассчитывали медиану $C_{\text{БХЭ в камере}}$ в двух пробах, а затем полученное значение пересчитывали на литр аэрозоля.

Значения средней концентрации фермента в камере составляли 5,2-9,0 Ед/л, с учетом времени ингаляции (14,8-22,15 мин) значения экспозиционной дозы БХЭ соответствовали диапазону 87,5-139,7 Ед/л*мин.

Определение концентрации ДФФ в камере осуществляли с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-селективным детектированием (Dionex Ultimate 3000 «Q Exactive Focus»). Отбор проб из камеры проводили дважды за период ингаляции в объеме 10 мл. Фазоводисперсный состав и концентрацию аэрозоля в камере определяли при помощи лазерного анализатора размера частиц TSI 3321 (TSI, США). Расчет коэффициентов осаждения аэрозоля в органах дыхания и фазово-дисперсного состава аэрозоля проводили по методике [16].

Расчет поглощенной морскими свинками дозы фермента и токсиканта за весь период ингаляции осуществляли по формуле:

$$D = (C_{\text{в камере}} * K_{\text{осаж. общ.}} * t * \text{МОД}) / m$$

где D – поглощенная доза за весь период ингаляции (Ед/кг для БХЭ или мкг/кг для ДФФ);

$C_{\text{в камере}}$ – средняя концентрация в камере (Ед/л для БХЭ или мкг/л для ФОС);

t – продолжительность ингаляции, мин;

$K_{\text{осаж. общ.}}$ – общий коэффициент осаждения аэрозоля в дыхательных путях морской свинки при ММАД аэрозоля 5 мкм;

МОД – медиана значения МОД за весь период ингаляции;

m – масса биообъекта, кг.

Расчетная поглощенная доза БХЭ составила 15,5-31,2 ед/жив, поглощенная доза ДФФ у животных варьировала в пределах LD₅₀–LD₁₀₀. В зависимости от силы воздействия ФОС все животные были разделены на три группы: I группа – $D_{\text{ДФФ}}$ соответствовала 1 LD₅₀, II группа – 1 LD₆₇ и III группа – 1 LD₁₀₀. Наблюдение за отравленными животными осуществляли в течение 14 суток.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 и Excel 2010. Данные представляли в виде медианы и процентилей (Med [Q₂₅;Q₇₅]). В ходе проведения анализа использовали непараметрические методы статистики: для сравнения количественных показателей - критерий Краскела-Уоллиса, для качественных показателей – критерий χ^2 . Критическое значение уровня статистической значимости принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что ингаляционное введение БХЭ сопровождается изменением функционального состояния внешнего дыхания морских свинок. На протяжении ингаляции БХЭ (14,8-22,15 мин) у морских свинок отмечали постепенное снижение объемных (минутный объем) и скоростных характеристик дыхания (увеличение продолжительности вдоха и выдоха). Динамика МОД представлена на рисунке 1.

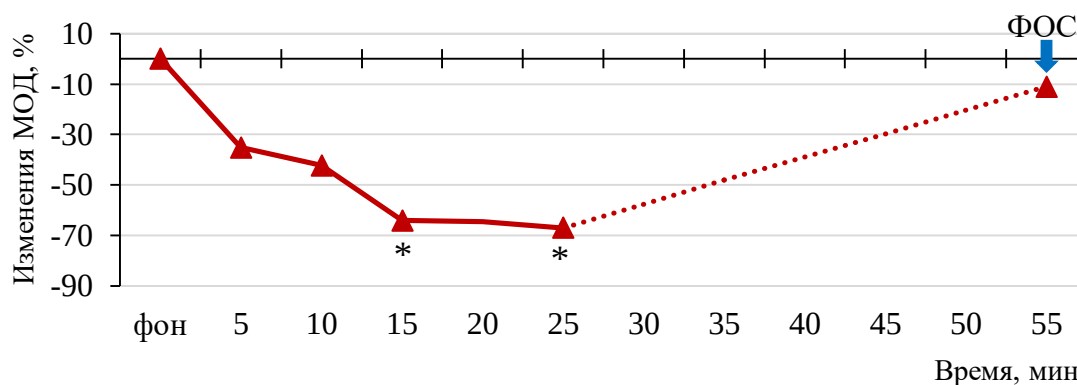


Рисунок 1. Динамика МОД морских свинок во время (сплошная линия) и после (пунктирная линия) ингаляционного введения БХЭ

Через 15 мин после начала ингаляции регистрировали статистически значимое снижение значений МОД на 62 % (при $p \leq 0,05$). Указанные изменения сохранялись на протяжении 10 мин и к моменту окончания ингаляции отличались от фоновых значений на 67 % (при $p \leq 0,05$). Спустя 30 мин после окончания ингаляции БХЭ наблюдали постепенное восстановление ФВД морских свинок. В этот срок изменения показателя МОД не превышали 11 % от исходного уровня. Анализ значений интегрального показателя $Penh$ показал, что введение фермента сопровождается лишь незначительным подъемом его значений, которые не достигали критерия, позволяющего констатировать развитие бронхоспазма у животных. Это могло быть сопряжено с процедурой ингаляционного воздействия. Отсутствие влияния БХЭ на показатель $Penh$, отражающий функциональное состояние дыхательной системы, позволяет считать изменения ФВД, выявленные во время ингаляции, не значимыми.

Результаты оценки защитной эффективности БХЭ при профилактическом ингаляционном введении морским свинкам за 30 мин до отравления ФОС представлены в таблице.

Влияние БХЭ при профилактическом ингаляционном введении морским свинкам на течение и исход интоксикации, вызванной ингаляционным отравлением ДФФ (Med [Q₂₅; Q₇₅]), n=6)

Степень тяжести отравления	Экспериментальная группа	Время развития признаков отравления, мин (доля животных с признаком, %)			
		Тризм	Тремор	Судороги	Гибель
I	Контроль	8 [6; 19] (67)	21 [16; 26] (67)	37 [26; 48] (50)	108 [73; 144] (50)
	БХЭ	7 [6; 8] (33)	20 [18; 22] (33)	- (0*)	10080 (17#)
II	Контроль	9 [8; 9] (100)	9 [7; 11] (100)	11 [10; 21] (83)	21 [20; 21] (67)
	БХЭ	9 [9; 11] (100)	8 [7; 8] (67)	22 [16; 28]* (50)	17 [16; 19] (33)
III	Контроль	9 [6; 11] (100)	7 [5; 8] (100)	18 [12; 20] (100)	29 [19; 43] (100)
	БХЭ	9 [8; 9] (100)	13 [11; 14] (100)	24 [17; 30] (67)	27 [16; 30] (50*)
Примечания: 1 -* - отличия от контрольных значений статистически значимы, при $p \leq 0,05$; 2- # - в I группе гибель 1 животного из 6 наблюдали через 7 сут после отравления ФОС					

В ходе проведения ингаляции ДФФ было достигнуто дозозависимое утяжеление картины интоксикации морских свинок, которое позволило условно выделить три степени тяжести отравления, характеризующиеся следующими особенностями:

В I группе признаки отравления развивались у половины животных и характеризовались последовательным развитием тризма, тремора и клонико-тонических судорог через 8 [6; 19]; 21 [16; 26] и 37 [26; 48] мин, соответственно. Гибель 50 % животных отмечали через 108 [73; 144] мин после экспозиции ФОС. Профилактическое введение БХЭ предупреждало развитие клонико-тонических судорог у всех опытных животных и их гибель в остром периоде отравления. Летальный исход отмечали только у одного из шести животных на 7 сутки после отравления, что, очевидно, связано развитием осложнений в постинтоксикационном периоде при отсутствии лечения.

Во II группе в контроле отмечали развитие судорожного синдрома в течение 11 [10; 21] мин после отравления у 83 % животных. Гибель 4 животных из 6 наступала через 21 [20; 21] мин. Профилактическое введение БХЭ пролонгировало наступление судорог до 22 [16; 28] мин, гибель животных в группе с введением фермента снижалась до 33 % (2 из 6).

В III группе в контроле отмечали быстрое развитие признаков отравления и гибель всех животных через 29 [19; 43] мин после воздействия модельным ФОС. Профилактическое введение БХЭ приводило к значимому снижению летальности животных до 50 %.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии защитной эффективности у фермента БХЭ при его ингаляционном применении в опытах на морских свинках.

Оценка показателей дыхания морских свинок при ингаляционном воздействии ДФФ позволила определить перспективность применения фермента в качестве средства коррекции органофосфат-индуцированных дыхательных нарушений. Было установлено, что ингаляционное введение токсиканта вызывает дозозависимое изменение ФВД морских свинок, проявляющееся в снижении МОД (рисунок 1), увлечении продолжительности вдоха и выдоха, увеличении экспираторных пауз, развитии бронхоконстрикции (показатель $Penh$ в группах контроля превышал значение 1,2).

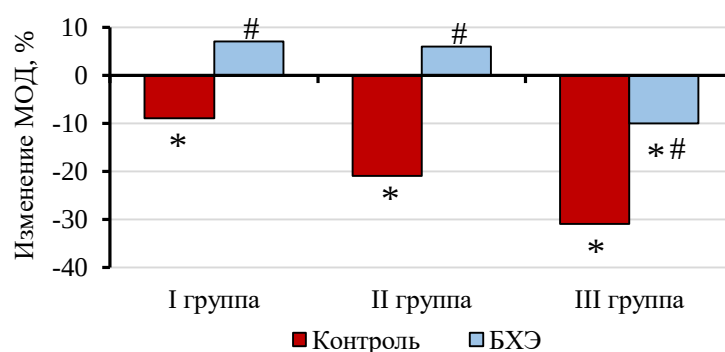


Рисунок 2. Влияние профилактического ингаляционного введения БХЭ на МОД морских свинок различных групп, подвергшихся ингаляционному воздействию ДФФ в зависимости от поглощённой дозы ДФФ и степени тяжести отравления

*Примечание: * - значимые отличия от фоновых значений, при $p < 0,05$;*

- значимые отличия от контрольных значений, при $p < 0,05$.

Профилактическое введение БХЭ в I и II опытных группах способствовало предотвращению значимых изменений таких параметров ФВД, как ДО, МОД и $Penh$. Значения этих показателей у животных на фоне терапии БХЭ не отличались от исходного уровня. В III опытной группе на фоне терапии наблюдали незначительное угнетение ФВД морских свинок – изменение показателей (в частности, МОД) не превышало 10 % от исходного уровня, в то время как в группе контроля эти изменения составляли более 30 %. Полученные результаты свидетельствовали о защитной эффективности фермента в отношении ФВД. На такие показатели, как частота дыхания, время вдоха и выдоха, пауза после вдоха фермент не оказывал корректирующего влияния.

Заключение. В ходе проведенного исследования установлено, что ингаляционное применение БХЭ вызывает краткосрочное угнетение ФВД у интактных животных. Наиболее выраженные изменения МОД (на 62-67 %) отмечали в период с 15 по 25 мин ингаляции

фермента, которые через 30 мин после окончания ингаляции восстанавливались до фоновых значений.

Отмечена защитная эффективность фермента при ингаляционном отравлении морских свинок ДФФ в летальных дозах. Так, при отравлении ФОС в дозе LD₅₀ БХЭ предотвращала развитие судорог и гибель животных в остром постинтоксикационном периоде. При увеличении поглощенной дозы ДФФ до LD₆₇ терапия БХЭ способствовала увеличению времени развития судорожного синдрома. При отравлении ФОС в дозах, соответствующих LD₁₀₀, применение БХЭ позволило существенно повысить выживаемость животных.

Показано, что профилактическое использование БХЭ позволяет предотвратить развитие проявлений дыхательной недостаточности у отравленных ФОС животных. По ряду показателей (в частности, ДО, МОД и Penh) отмечали способность фермента предупреждать выраженное угнетение ФВД морских свинок.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований по изучению защитной эффективности БХЭ при ингаляционном применении. Они могут быть положены в основу разработки ингаляционной лекарственной формы БХЭ в виде дозированного аэрозольного ингалятора для системного профилактического и лечебного введения.

Список литературы

1. Pandey S., Shrestha N. Organophosphorus poisoning among acute poisoning cases presenting to the emergency department of a secondary care centre: a descriptive cross-sectional study. *Journal of Nepal Medical Association*. 2022; 60 (249): 435-438. <http://doi.org/10.31729/jnma.7446>.
2. Антидотная терапия отравлений высокотоксичными веществами в условиях чрезвычайных ситуаций / Под ред. В.Д. Гладких, С.Х. Сарманаева, Ю.Н. Остапенко. М.: Комментарий; 2014.
3. Антохин А.М., Гайнуллина Э.Т., Таранченко В.Ф., Рыжиков С.Б., Яваева Д.К. Холинэстеразы: структура активного центра и механизмы влияния блокаторов холинорецепторов на скорость взаимодействия с лигандами. *Успехи химии*. 2010; 79 (8): 780-795. <http://doi.org/10.1070/RC2010v079n08ABEH004025>
4. Ивлеева Н.В. Отравления бытовыми фосфорорганическими соединениями. *Медицинская сестра*. 2016; (5): 24-29.
5. Темченко А.В. Фосфорорганические соединения: токсикологическая характеристика и степень опасности. *Международный студенческий научный вестник*. 2017; 3 (4): 289-291.

6. Giyanwani P.R., Zubair U., Salam O. et al. Respiratory failure following organophosphate poisoning: a literature review. *Cureus*. 2017; 9 (9). <http://doi.org/10.7759/cureus.1651>. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5669523/> (дата обращения 01.02.2023).
7. Венгерович Н.Г., Юдин М.А., Никифоров А.С. и др. Обоснование выбора антиоксидантов, перспективных для введения в виде аэрозолей при ингаляционном поражении отравляющими веществами. *Медлайн.ру*. 2021; 22: 35-48; URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom22/art3.html> (дата обращения 16.02.2023).
8. Иванов И.М., Субботина С.Н., Алхутова И.М. и др. Механизмы нарушений дыхания при отравлениях фосфорорганическими соединениями и направления коррекции при помощи бронхорасширяющих средств. *Медлайн.ру*. 2022; 23: 185-200; URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom23/art12.html> (дата обращения 10.02.2023).
9. Венгерович Н.Г., Драчкова И.М., Юдин М.А. и др. Экспериментальное обоснование ингаляционного введения средств патогенетической терапии токсического судорожного синдрома для коррекции нарушений функции внешнего дыхания. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018; 165 (2): 188-192.
10. Свентицкая А.М., Орлова А.Б., Субботина С.Н. и др. Перспективы применения скавенджеров в качестве средств антидотной терапии острых отравлений веществами антихолинэстеразного действия (обзор литературы). *Медлайн.ру*. 2020; 21: 452-473; URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom21/art37.html> (дата обращения 09.02.2023).
11. Массон П., Рошу Д. Каталитические «биоловушки» против токсических эфиров, альтернативный подход для профилактики и лечения отравлений. *Acta Naturae*. 2009; (1): 70-81.
12. Юдин М.А., Чепур С.В., Федонюк В.П. и др. Сравнительный анализ создания антидотов фосфорорганических отравляющих веществ в России и за рубежом. *Военно-медицинский журнал*. 2019; 340 (2): 18-26.
13. Филимонов И.В., Янковская А.А., Кужелко С.В. и др. Исследования в сфере перспективного использования химико-биологических и медицинских биокаталитических технологий в интересах вооруженных сил. *Вестник войск РБХ защиты*. 2018; 2 (2): 18-50.
14. diTargiani R.C., Chandrasekaran L., Belinskaya T. et al. In search of a catalytic bioscavenger for the prophylaxis of nerve agent toxicity. *Chem. Biol. Interact*. 2010; 187 (1-3): 349-354. <http://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.02.021>.
15. Sun W., Doctor B.P., Lenz D.E. et al. Long-term effects of human butyrylcholinesterase pretreatment followed by acute soman challenge in cynomolgus monkeys. *Chem. Biol. Interact*. 2008; 175 (1-3): 428-430.

16. Doctor B.P., Saxena A. Bioscavenger for protection of humans against organophosphate toxicity. *Chem. Biol. Interact.* 2005; 157-158: 167-171.
17. Тюренок И.Н., Великородная Ю.И. О роли бутирилхолинэстеразы в патогенезе нейродегенеративных заболеваний: спорные аспекты. *Успехи современной биологии.* 2020; 140 (5): 455-463.
18. Илюшин Д.Г., Эртле О.М., Бобик Т.В. и др. Рекомбинантная бутирилхолинэстераза человека как биологический антидот нового поколения: разработка эукариотической системы экспрессии. *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2013; 16 (1): 76-87.
19. Великородная Ю.И., Антонов В.А., Почепцов А.Я. и др. Влияние высокочастотной бутирилхолинэстеразы человека, конъюгированной с коллоидным золотом, на активность в-эстераз после воздействия диизопропилфторфосфата. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2019; 4 (72): 69-72.
20. Saxena A., Sun W., Fedorko J.M. et al. Prophylaxis with human serum butyrylcholinesterase protects guinea pigs exposed to multiple lethal doses of soman or VX. *Biochem. Pharmacol.* 2011; 81 (1): 164–169. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.09.007>.
21. Rosenberg Y.J., Laube B., Mao L. et al. Pulmonary delivery of an aerosolized recombinant human butyrylcholinesterase pretreatment protects against aerosolized paraoxon in macaques. *Chem. Biol. Interact.* 2013; 203: 167-171.
22. Rosenberg Y.J., James B. Creation of a protective pulmonary bioshield against inhaled organophosphates using an aerosolized bioscavenger. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2016; 1374 (1): 151–158. <http://doi.org/10.1111/nyas.13106>.
23. Кряжевских А.А., Кряжевских А.А., Субботина С.Н. и др. Влияние фосфорорганических соединений на функцию внешнего дыхания крыс при интратрахеальном и внутрижелудочном введении. *Формулы Фармации.* 2021; 3 (2): 60-65. <http://doi.org/10.17816/phf72068>
24. Быков В.Н., Сарана А.М., Драчкова И.М. и др. Исследование влияния антиконвульсантов на течение дыхательной недостаточности при отравлениях фосфорорганическими соединениями. *Вестник Российской военно- медицинской академии.* 2014; 1 (45): 110-115.
25. Frazer D.G., Reynolds J.S., Jackson M.C. Determining when enhanced pause (Penh) is sensitive to changes in specific airway resistance. *Toxicol Environ Health.* 2011; 74 (5): 287-295.