
КУРСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК "ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ"

Ежеквартальный рецензируемый журнал

Основан в 1998 году

№ 2

2019

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

В.А. Лазаренко, <i>д.м.н., профессор</i>	– главный редактор (Курск)	Т.А. Ишунина, П.В. Калуцкий,	д.м.н., профессор (Курск) д.м.н., профессор (Курск)
П.В. Ткаченко, <i>д.м.н., доцент</i>	– зам. главного редактора (Курск)	А.В. Караулов,	академик РАН (Москва)
И.И. Бобынцев, <i>д.м.н., профессор</i>	– ответственный секретарь (Курск)	Т.Л. Киселева, Т.В. Кудрявцева,	д.ф.н., профессор (Москва) д.м.н., профессор (Санкт-Петербург)
А.И. Бежин,	д.м.н., профессор (Курск)	В.Г. Кукес,	академик РАН (Москва)
И.В. Гайворонский,	д.м.н., профессор (Санкт-Петербург)	В.Б. Ласков,	д.м.н., профессор (Курск)
А.П. Гесасе,	профессор (Танзания)	Н.Н. Маслова,	д.м.н., профессор (Смоленск)
В.К. Гостищев,	академик РАН (Москва)	В.П. Михин,	д.м.н., профессор (Курск)
В.В. Гриневич,	профессор (Германия)	А.Ю. Миронов,	д.м.н., профессор (Москва)
К.Г. Гуревич,	профессор РАН (Москва)	М.З. Нариманян,	профессор (Армения)
М.М. Гурова,	д.м.н., доцент (Белгород)	С.В. Поветкин,	д.м.н., профессор (Курск)
Р.К. Гутierre,	профессор (Бразилия)	А.В. Полоников,	д.м.н., профессор (Курск)
И.И. Долгушин,	академик РАН (Челябинск)	Г.В. Порядин,	член-корр. РАН (Москва)
А.А. Должииков,	д.м.н., профессор (Белгород)	А.А. Савин,	д.м.н., профессор (Москва)
И.Л. Дроздова,	д.ф.н., доцент (Курск)	Б.С. Суковатых,	д.м.н., профессор (Курск)
А.В. Иванов,	д.м.н., профессор (Курск)	И.Г. Хмелевская,	д.м.н., профессор (Курск)
В.П. Иванов,	д.м.н., профессор (Курск)	О.Л. Чугунова,	д.м.н., профессор (Москва)
А.К. Иорданишвили,	д.м.н., профессор (Санкт-Петербург)	В.К. Шорманов,	д.ф.н., профессор (Курск)

Учредитель и издатель: ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Редакция:

305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, редакция журнала «Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»
Тел. (4712) 58-81-48
Факс (4712) 58-81-37
E-mail: kursk-vestnik@mail.ru
<http://www.kursk-vestnik.ru>

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» 48473.
Цена – свободная.

ISSN 1998-5746



9 771998 574460 >

Знаком информационной продукции не маркируется.

Журнал зарегистрирован Министерством Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (Свидетельство о регистрации: ПИ № 77-3066 от 10.04.2000 г. – печатное издание).

Периодичность: 4 раза в год

Оригинал-макет: Издательство Курского государственного медицинского университета

305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.
Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.
Формат 60x84/8. Усл. печ. л. 18,0.
Тираж 1000 экз.

Подписано в печать 20.06.2019.
Отпечатано в типографии КГМУ.
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.
Заказ № 243(Г).

Дата выхода в свет 26.06.2019.

Индексация: РИНЦ (Science Index), Ulrich's International Periodicals Directory, Cyberleninka, Google Scholar, CrossRef, ВИНТИ РАН, Российская книжная палата.

© Редколлегия Курского научно-практического вестника «Человек и его здоровье» (составитель), 2019 г.

KURSK SCIENTIFIC AND PRACTICAL BULLETIN

“MAN AND HIS HEALTH”

A quarterly reviewed journal

Established in 1998

№ 2

2019

EDITORIAL BOARD:

V.A. Lazarenko, <i>PhD, MD, Full Professor</i>	– Editor-in-chief (Kursk)	P.V. Kalutsky, A.V. Karaulov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk) Academician of Russian Academy of Sciences (Moscow)
P.V. Tkachenko, <i>PhD, MD, Associate Professor</i>	– Deputy Editor-in-chief (Kursk)	T.L. Kiseleva,	PhD, Doctor of Pharmacy, Full Professor (Moscow)
I.I. Bobyntsev, <i>PhD, MD, Full Professor</i>	– Executive secretary (Kursk)	T.V. Kudryavtseva,	PhD, MD, Full Professor (St. Petersburg)
A.I. Bezhin,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)	V.G. Kukes,	Academician of Russian Academy of Sciences (Moscow)
I.V. Gayvoronsky,	Professor (St. Petersburg)	V.B. Laskov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
A.P. Gesase,	Professor (Tanzania)	N.N. Maslova,	PhD, MD, Full Professor (Smolensk)
M.M. Gurova,	PhD, MD, Associate Professor (Belgorod)	V.P. Mikhin,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
V.K. Gostishchev,	Academician of Russian Academy of Sciences (Moscow)	A.Yu. Mironov,	Professor (Moscow)
V. Grinevich,	Professor (Germany)	M.Z. Narimanyan,	Professor (Armenia)
K.G. Gurevich,	Professor of Russian Academy of Sciences (Moscow)	S.V. Povetkin,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
R.C. Gutierre,	Professor (Brazil)	A.V. Polonikov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
I.I. Dolgushin,	Academician of Russian Academy of Sciences (Chelyabinsk)	G.V. Poryadin,	Corresponding Member of Russian Academy of Sciences (Moscow)
A.A. Dolzhikov,	PhD, MD, Full Professor (Belgorod)	A.A. Savin,	PhD, MD, Full Professor (Moscow)
I.L. Drozdova,	PhD, Doctor of Pharmacy (Kursk)	B.S. Sukovatykh,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
A.V. Ivanov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)	I.G. Khmelevskaya,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
V.P. Ivanov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)	O.L. Chugunova,	PhD, MD, Full Professor (Moscow)
A. K. Iordanishvili,	PhD, MD, Full Professor (St. Petersburg)	V.K. Shormanov,	PhD, Doctor of Pharmacy, Full Professor (Kursk)
T.A. Ishunina,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)		

Founder and publisher: Kursk State Medical University, the Ministry for Healthcare of Russian Federation

The journal is included in the list of peer-reviewed scientific journals, recommended by the Higher Attestation Commission of Russian Federation to publish original research results for Doctoral and PhD theses

Editorial Board Office:

3, K. Marx, Kursk, 305041, Russia
Editorial office of the journal "Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and his health»
Tel. (4712) 58-81-48
Fax (4712) 58-81-37
E-mail: kursk-vestnik@mail.ru
<http://www.kursk-vestnik.ru>

Subscription index in «Russian Press» catalogue 48473.
The price – free.

ISSN 1998-5746



Registered by the Ministry for Press, Television and Radio Broadcasting and Mass Communication of Russian Federation (Certificate of registration: PI No 77-3066 of 10.04.2000)

Publication Frequency: Quarterly

Publisher:

Kursk State Medical University,
3, K. Marx, Kursk, 305041, Russia
License: LR No 020862 dated to 30.04.99.
Signed to print 20.06.2019
Format 60x84/8. C.p.l. 18,0.
1000 copies.
Printed in the Printing House of Kursk State Medical University
3, K. Marx, Kursk, 305041, Russia
Order no 243(G).
Date of publication 26.06.2019.

The journal is indexed: Science Index, Ulrich's International Periodicals Directory, Cyberleninka, Google Scholar, CrossRef, All Russian Institute for Scientific and Technical Information (VINITI) of Russian Academy of Sciences, Russian Book Chamber.

© Editorial board of Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and his health» (compiler), 2019

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

- Бежин А.И., Липатов В.А., Фрончек Э.В., Григорьян А.Ю., Наимзада М.Д.З., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А.**
Влияние хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса в эксперименте 5
- Иванов С.В., Лазаренко В.А., Юдина С.М., Иванова И.А., Иванов И.С., Клеткин М.Е., Горяинова Г.Н., Козьева В.В., Обьедков Е.Г., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А.**
Цитоморфологические изменения в легких при моделировании буллезной эмфиземы в зависимости от стимуляции неоколлагеногенеза в эксперименте 17
- Марченкова Л.А., Макарова Е.В., Еремушкин М.А., Шакурова Л.Р., Стяжкина Е.М., Чесникова Е.И., Разваляева Д.В., Котенко Н.В., Новиков А.В., Щедрина М.А.**
Исследование особенностей дефицита мышечной силы и влияющих на них факторов у пациентов с компрессионными переломами тел позвонков на фоне системного остеопороза 27
- Шутеева Т.В., Никишина В.Б., Петраш Е.А., Черняховский О.Б.**
Автоматизация мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде 39
- Маркелов Ю.М., Лесонен А.С., Костина О.**
Фармакоэкономический анализ эффективности лечения пациентов с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью при введении клиент-ориентированного подхода 51

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А.**
Стресс-протекторное и иммуномодулирующее действие Семакса в условиях экспериментального информационного стресса 57
- Иорданишвили А.К.**
Фториды: их значение для здоровья человека в современных условиях и перспективы использования 66
- Чулкова А.С., Бондаренко Е.Т., Ильин М.В.**
Кинетика поглощения кислорода крови у больных атеросклерозом 74
- Мухина А.Ю., Бобынцев И.И., Медведева О.А., Мишина Е.С., Свищева М.В.**
Морфологические особенности толстой кишки крыс при стресс-индуцированном дисбиозе 80

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Бубенчиков Р.А., Кorableва Т.В.**
Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного (*Lactuca serriola* L.) 87
- Тютрина В.А., Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А.**
Разработка методики изолирования эфавиренза из мочи 95

CLINICAL MEDICINE

- Bezhin A.I., Lipatov V.A., Fronchek E.V., Grigoryan A.Yu., Naimzada M.D.Z., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A.**
Effect of chitosan-collagen complex with silver nanoparticles on the wound progress in experiment 5
- Ivanov S.V., Lazarenko V.A., Yudina S.M., Ivanova I.A., Ivanov I.S., Kletkin M.E., Goryainova G.N., Kozieva V.V., Ob'edkov E.G., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A.**
Cyto-morphological changes in lungs when modelling bullous emphysema depending on the stimulation of neocollagenogenesis in experiment 17
- Marchenkova L.A., Makarova E.V., Eryomushkin M.A., Shakurova L.R., Styazhkina E.M., Chesnikova E.I., Razvalyaeva D.V., Kotenko N.V., Novikov A.V., Shchedrina M.A.**
Muscular and strength deficiency in patients with osteoporotic compression vertebral fractures: osteoporosis as a risk factor for sarcopenia 27
- Shuteeva T.V., Nikishina V.B., Petrash E.A., Chernyakhovsky O.B.**
Automation of fine motor actions in the functional training of patients with stroke in the early recovery period 39
- Markelov Yu.M., Lesonen A.S., Kostina O.**
Pharmacoeconomic evaluation of treatment effectiveness after introducing a client-oriented approach for patients with primary multidrug resistant tuberculosis 51

MEDICOBIOLOGICAL SCIENCES

- Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Myasoedov N.F., Andreeva L.A.**
Stress-protective and immunomodulatory effects of Semax under experimental informational stress 57
- Iordanishvili A.K.**
Fluorides: their value for human health in modern conditions and prospects for their use 66
- Chulkova A.S., Bondarenko E.T., Ilyin M.V.**
Kinetics of blood oxygen consumption in patients with atherosclerosis 74
- Mukhina A.Yu., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Mishina E.S., Svishcheva M.V.**
Morphological features of the rats' large intestine with stress-induced dysbiosis 80

PHARMACEUTICAL SCIENCES

- Bubenchikov R.A., Korableva T.V.**
Developing the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) 87
- Tyutrina V.A., Chmelevskaya N.V., Illarionova E.A.**
Development of a method for isolating Efavirenz from a model urine mixture 95

**Останин М.А., Чернова А.П., Шорманов В.К.,
Елизарова М.К.**
Применение классических методов для изолирования
2-метоксигидроксибензола (гваякола) из биологического
материала 102

**Ostanin M.A., Chernova A.P., Shormanov V.K., Eliza-
rova M.K.**
Application of classical methods for isolating
2-methoxyhydroxybenzene (guaiacol) from biological materi-
als 102

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАН-КОЛЛАГЕНОВОГО КОМПЛЕКСА С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© Бежин А.И.¹, Липатов В.А.¹, Фрончек Э.В.², Григорьян А.Ю.¹,
Наимзада М.Д.З.¹, Лазаренко Е.Д.¹, Медведева М.А.¹

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² ООО «Эверс Груп Рус»

Россия, 125493, г. Москва, ул. Флотская, 5

Цель: изучить в эксперименте локальное воздействие хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса, а также его гепато- и нефротоксические эффекты.

Материалы и методы. Для исследования были использованы образцы перевязочного средства на основе высокомолекулярных полимеров, которые представляли собой высокопористую губку из хитозан-коллагенового полиэлектролитного комплекса с включением коллоидных (ультрадисперсных) частиц металлического (нульвалентного) серебра. Эксперимент был выполнен на белых крысах-самцах породы «Вистар». Оценка результатов проводилась на основании планиметрического, бактериологического, гистологического, биохимического и гематологического методов. Результаты обработаны статистически.

Результаты. Было выявлено, что к 15 суткам площадь ран уменьшилась на 96% от исходного размера, максимальная скорость заживления отмечалась на отрезке 1-5 сутки лечения, при гематологическом и биохимическом исследовании крови значимых изменений выявлено не было. При гистологическом исследовании микропрепаратов ран было отмечено, что к 15 суткам имел место разгар пролиферативной фазы воспаления, данные также подтверждены на основании морфометрического исследования и гидроксипролинового теста.

Заключение. Таким образом, применение хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра положительно влияло на течение раневого процесса путем сокращения микробной обсемененности раны, стимулирования регенерации тканей, при этом не оказывая пагубного воздействия на печень и почки.

Ключевые слова: лечение ран, хитозан-коллагеновый комплекс, наночастицы серебра, коллоидное серебро, раневое покрытие, раневой процесс.

Бежин Александр Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3776-9449. E-mail: abezin@yandex.ru

Липатов Вячеслав Александрович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий лабораторией экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-6121-7412. E-mail: drli@yandex.ru

Фрончек Эдуард Валентинович – канд. хим. наук, советник генерального директора, ООО «Эверс Груп Рус», г. Москва. E-mail: fronchek6@yandex.ru

Григорьян Арсен Юрьевич – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: arsgrigorian@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Наимзада Мухаммад Давид Зияуддин – мл. науч. сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-7894-6029. E-mail: david.kursk@gmail.com

Лазаренко Екатерина Дмитриевна – студентка, КГМУ, г. Курск. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Медведева Марина Алексеевна – студентка, КГМУ, г. Курск.

На протяжении многих веков проблема хирургического лечения ран не теряет своей актуальности. Это обусловлено широкой распространенностью ран различного происхождения, в том числе преднамеренных в ходе операции, развитием послеоперационных осложнений, являющихся в ряде случаев причиной неблагоприятного исхода [1, 4, 13]. По данным некоторых авторов, от всех хирургических заболеваний осложнения, связанные с нагноением послеоперационных ран, составляют 30-35% [5, 8, 9, 14].

Одной из современных проблем фармакотерапии является бесконтрольное применение антибактериальной профилактики нагноения ран. Зачастую антибактериальная терапия носит эмпирический характер, а подбор антибиотика с

учетом чувствительности запаздывает по ряду субъективных и объективных причин. Наиболее часто микробиологический пейзаж хирургических ран представлен стафилококками, стрептококками, представителями семейства Enterobacteriaceae, неферментирующими грамотрицательными бактериями, облигатными неспорообразующими анаэробными микроорганизмами. При этом в большинстве случаев возбудители малочувствительны или нечувствительны ко многим антибактериальным препаратам [7, 8, 11, 14].

Помимо фармакотерапевтических существуют и физические методы антибактериальной терапии, в частности, гипербарическая оксигенация, лазеро-, магнитотерапия, управле-

мая абактериальная среда и т.д. [13] Недостаток методов заключается в отсутствии возможности амбулаторного применения многих из них, что снижает доступность для широкого спектра пациентов. В этой связи применение различных по своему составу и качеству перевязочных средств, в том числе с лекарственной антисептической основой, является весьма привлекательным, как в амбулаторных, так и в стационарных условиях. В настоящее время существует большое разнообразие перевязочного материала: «Коллост», «Autrauman», «Branolin», «Комбутек», «Облекол», «Коллахит ФА», «Метрукол» и др. [1, 2, 4, 5, 9, 10, 12]. Известно, что образующиеся на ране биопленки отвечают за стимуляцию и поддержание воспаления раны, наиболее эффективный способ удаления биопленок включает использование механических методов, при этом раневая повязка представляет собой важный компонент этой стратегии. Было показано, что волокна полиакрилата и хитозана эффективно влияют на структуру биопленки, разрушая ее матрицу, что помогает повысить эффективность противомикробных препаратов, таких как серебро. В свою очередь, добавление слишком большого количества активных химикатов в рану может быть очень вредным для раневого ложа [14, 15].

Цель работы: изучить в эксперименте локальное воздействие хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса, а также его гепато- и нефротоксические эффекты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент был проведен на 60 белых крысах-самцах породы «Вистар» массой 180-200 г. В качестве материала для экспериментального исследования были использованы образцы биологически активного перевязочного средства на основе природных, способных к биодegradации, высокомолекулярных полимеров хитозана и коллагена.

Образцы представляли собой высокопористую губку размером (2x2x0,4) см из хитозан-коллагенового полиэлектролитного комплекса состава хитозан: коллаген 2:1 по массе с включением коллоидных (ультрадисперсных) частиц металлического (нульвалентного) серебра.

Все животные были разделены на 2 группы по 30 особей: контрольная – лечение не проводилось, опытная – лечение проводилось исследуемым раневым покрытием. Манипуляции с экспериментальными животными проводились в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых

для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N123.

Моделирование раны производилось следующим образом: в стерильных условиях под ингаляционным наркозом, на предварительно выбритом участке спины крысы иссекался кожно-подкожный лоскут размером 16x16 мм (площадь раны составляла 250 ± 4 мм²). Лечение в контрольной группе не проводилось, а в опытной группе сразу после моделирования на рану накладывали хитозан-коллагеновое раневое покрытие с наночастицами серебра и фиксировали пластырной повязкой.

Планиметрический метод исследования. Для математической объективизации оценки темпов заживления раны по изменению ее площади использовали метод Л.Н. Поповой, также определяли процент уменьшения площади ран (ПУП) от исходного размера и скорость заживления ран (СЗ).

Гистологическое изучение препаратов ран и органов (печень и почки) производили после выведения подопытного животного из эксперимента. Изготавливали срезы кожи и внутренних органов толщиной 5-7 мкм и после окраски гематоксилин-эозином или по Ван-Гизон заключали в среду Биомант под покровное стекло. Световая микроскопия осуществлялась на микроскопе Leica CME (консультанты профессор А.В. Иванов, доцент В.Т. Дудка).

Помимо описательной гистологии раневых срезов было выполнено *морфометрическое исследование*, заключающееся в следующем: на срезах гистологических препаратов кожи при увеличении x400, на выбранном участке в пределах раневого дефекта под лейкоцитарно-фибринозным струпом производили подсчет следующих клеток: фибробластов, гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов, полученные результаты выражали в процентах.

Биохимические исследования производились автоматическим биохимическим анализатором «ACCENT 200» производства компании PZ CORMAY S.A. Определяли уровень креатинина, мочевины, АЛТ и АСТ.

Гематологические исследования производились автоматическим гематологическим анализатором «RT-7600S» версия для ветеринарии производства компании RAYTO LIFE AND ANALYTICAL SCIENCES CO Ltd. Определяли следующие показатели: лейкоциты, лимфоциты, гранулоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, тромбоциты.

Для определения концентрации гидроксипролина в образцах раневых препаратов использовали колориметрический метод определения продуктов реакции окисленного гидроксипролина и реактива Эрлиха. Для приготовления

ния стандартов использовали кристаллический гидроксипролин производства Sigma (США).

Результаты обработаны статистически с помощью пакета Microsoft Excel 2010 и Statistica v. 6.0. Количественные признаки представляли в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me(25;75)). При сравнении между собой показателей опытной и контрольной групп применяли U критерий Манна-Уитни. Критический уровень статистической значимости принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке планиметрических показателей (табл. 1 и 2) было отмечено следующее: с течением времени происходило уменьшение пло-

щади ран и увеличение ПУП ран. К 15 суткам в опытной группе площадь ран уменьшилась на 96% от исходного размера, а в контрольной группе – лишь на 72,8% (различия были статистически достоверны на всех сроках наблюдения). Максимальная СЗ ран в опытной группе отмечалась на отрезке 1-5 сутки лечения, что в 1,7 раза быстрее, чем в контрольной (различия статистически значимы).

Исследуемые биохимические показатели крови варьировали с течением времени (на 5, 10 и 15 сутки): некоторое снижение креатинина и мочевины отмечалось к 15 суткам в опытной группе, однако показатели находились в пределах референтных значений (табл. 3). При гистологическом описании на всех сроках исследования в опытной группе было отмечено, что в паренхиме печени и почек патологичес-

Таблица 1
Table 1

Динамика площади (мм²) и процент уменьшения площади ран (%), Me (25; 75)

Dynamics of the area (mm²) and the wound area reduction percentage (%), Me (25; 75)

Показатель Indicator	Исследуемая группа Study group	5 сутки (n=30) 5 th day	10 сутки (n=20) 10 th day	15 сутки (n=10) 15 th day
Площадь ран Wound area	Опытная Trial group	151 (130;173)*	54.5 (39;80)*	10 (9;14)*
	Контрольная Control group	196 (191; 201)	119 (113; 124)	69 (61; 74)
Процент уменьшения площади ран Wound area reduction percentage	Опытная Trial group	39.6 (30.8; 48) [#]	78.2 (68.1; 84.5) [#]	96 (94.4; 96.4) [#]
	Контрольная Control group	22.4 (20; 23.8)	52.8 (50.6; 54.7)	72.8 (69.8; 76.5)

Примечание: площадь ран: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$); процент уменьшения площади ран: символом # отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: the area of wounds: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$); wound area reduction percentage: # symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

Таблица 2
Table 2

Скорость заживления ран (%/сутки), Me (25; 75)

Wound healing rate (% / day), Me (25; 75)

Показатель Indicator	Исследуемая группа Study group	1-5 сутки (n=30) 1-5 day	5-10 сутки (n=20) 5-10 day	10-15 сутки (n=10) 10-15 day
Скорость заживления ран Wound healing rate	Опытная Experienced group	9.9 (7.7; 12)*	7.3 (5.5; 10.2)*	4.5 (2.5; 5.7)
	Контрольная Control group	5.7 (5.2; 6)	6.1 (5.6; 6.4)	4 (3.6; 4.4)

Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

Биохимические показатели крови, Ме (25; 75), n=10
Blood biochemical parameters, Me (25; 75), n=10

Показатель Indicator	Единицы измерения Units of measure	Референтные значения Reference values	Исследуемая группа Study group	Сутки Day		
				5	10	15
Креатинин Creatinine	мкмоль/л μmol/l	29.3-75.4	Опытная Trial group	39.4 (37.3; 41.1)*	33.6 (32; 35.1)	30.4 (27.6; 35)
			Контрольная Control group	28.8 (25.1; 32.1)	31.8 (29.3; 32.5)	31.9 (30.1; 32.9)
Мочевина Urea	ммоль/л mmol/l	4.8-10.6	Опытная Trial group	5.4 (5.1; 5.8)*	5.8 (5.4; 7.1)	4.8 (3.6; 5)*
			Контрольная Control group	4 (3.7; 4.2)	5.6 (5.2; 6)	5.5 (5.4; 6)
АЛТ ALT	Ед/л IU/L	40-115	Опытная Trial group	57.3 (53.2; 65)*	53.5 (45.7; 56.8)	78.8 (71.8; 84.1)
			Контрольная Control group	65.2 (62; 70.8)	63.6 (50.7; 65.1)	72.2 (70.6; 77.1)
АСТ AST	Ед/л IU/L	72-196	Опытная Trial group	92.4 (78.3; 102.3)	103.5 (94.1; 110.2)*	99.2 (95; 102.1)*
			Контрольная Control group	84.3 (84; 88.6)	87.8 (86.5; 92.2)	89.1 (81.8; 91.3)

Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

ских изменений не отмечалось. Структура почечных телец и отделов нефронов сохранялась интактной. Балочная структура паренхимы печени не изменялась. Таким образом, можно говорить об отсутствии пагубного воздействия исследуемого раневого покрытия на состояние гепатоцитов и нефронов при ежедневном применении в течение 15 суток.

Результаты гематологического исследования представлены в таблице 4, следует отметить, что к 10 суткам наблюдения в опытной группе происходило увеличение лимфоцитов выше референтных значений, уровень лейкоцитов снижался от 5 к 15 суткам, а уровень гранулоцитов был ниже референтных значений на протяжении всего исследования. Со стороны показателей красной крови отмечалось некоторое снижение гемоглобина и гематокрита на 10 сутки наблюдения.

В контрольной группе на 5 сутки отмечался лейкоцитоз с лимфоцитозом (отличия от опытной группы статистически значимы), различия по данным показателям нивелировались к 10 суткам наблюдения.

Изменения, происходившие по остальным показателям, и различия между опытной и контрольной группами можно трактовать как ответ

на стресс, связанный с ежедневными перевязками в опытной группе.

При гистологическом исследовании было отмечено, что к 5 суткам у всех животных опытной группы кратер раны был полностью заполнен грануляционной тканью, имеющей признаки незрелости: отсутствие выраженной послойной организации, относительно большую толщину поверхностного слоя грануляций, отек глубоких слоев грануляционной ткани (рис. 1А). Фактически, поверхностный слой, представляющий собой фибриновый выпот и имбибированный лейкоцитами, составлял от 0,25 до 0,5 (в некоторых местах) и даже более, толщины слоя грануляционной ткани. Регенерирующий эпидермис покрывал стенки края раневого кратера. Краевой эпителиальный вал у большей части животных был расщеплен и деформирован. Волокнистый каркас грануляций состоит из незрелых коллагеновых волокон, пространственная ориентация которых соответствует организации слоя горизонтальных фибробластов (рис. 1В). Таким образом, происходило становление процессов, соответствующих фазе экссудации. В контрольной серии на 5 сутки наблюдения отмечались признаки экссудативной фазы воспаления. Воспалительный инфильтрат

Таблица 4
Table 4

Результаты гематологического исследования, Ме (25; 75), n=8

The results of hematological research, Me (25; 75), n=8

Показатель Indicator	Единицы измерения Units of measure	Референтные значения Reference values	Исследуемая группа Study group	Сутки Day		
				5	10	15
Лейкоциты Leukocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	5.2-19.0	Опытная Trial group	17.9 (17.3; 18.3)*	17.4 (17; 18.9)	15.6 (15.1; 16.1)
			Контрольная Control group	22.2 (20.1; 22.7)	19.3 (16.5; 19.6)	16.5 (15.8; 17.2)
Лимфоциты Lymphocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	4.4-16.9	Опытная Trial group	15.7 (15.2; 16.1)*	17.2 (16.4; 17.9)*	11 (10.3; 11.7)
			Контрольная Control group	19.4 (17.7; 20.8)	14 (9.8; 14.6)	10.7 (8.5; 12)
Гранулоциты Granulocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	2.0-7.8	Опытная Trial group	1.8 (1.4; 2.2)	0.5 (0.4; 0.7)*	1.1 (0.9; 1.5)*
			Контрольная Control group	2.2 (1.5; 2.7)	5.1 (4.4; 6)	5 (4; 5.5)
Эритроциты Erythrocytes	10 ¹² /л 10 ¹² /l	5.3-9.1	Опытная Trial group	9 (8.9; 9.1)	8.1 (7.9; 8.3)*	9.4 (9.4; 9.5)
			Контрольная Control group	9 (8.5; 9.2)	9.7 (9.2; 9.9)	9.2 (9; 9.3)
Гемоглобин Hemoglobin	г/л g/l	128-176	Опытная Trial group	120 (118.5; 121)*	106 (104; 107.5)*	128 (127.5; 128.5)
			Контрольная Control group	127.1 (120.8; 128)	130.2 (127.6; 131.4)	129 (129; 130.8)
Гематокрит Hematocrit	%	39.3-52.2	Опытная Trial group	41.6 (40.8; 42.2)*	34.7 (34.2; 35.6)*	40.3 (39.9; 40.8)
			Контрольная Control group	38.5 (35.9; 40.5)	39.9 (39.3; 40.4)	40.1 (38.6; 40.9)
Тромбоциты Platelets	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	430-1000	Опытная Trial group	995 (973.5; 1014.5)	877.5 (855.5; 918.5)*	898.5 (884.5; 909)*
			Контрольная Control group	998 (975; 1061)	1041 (1000; 1075)	1033 (990; 1081)

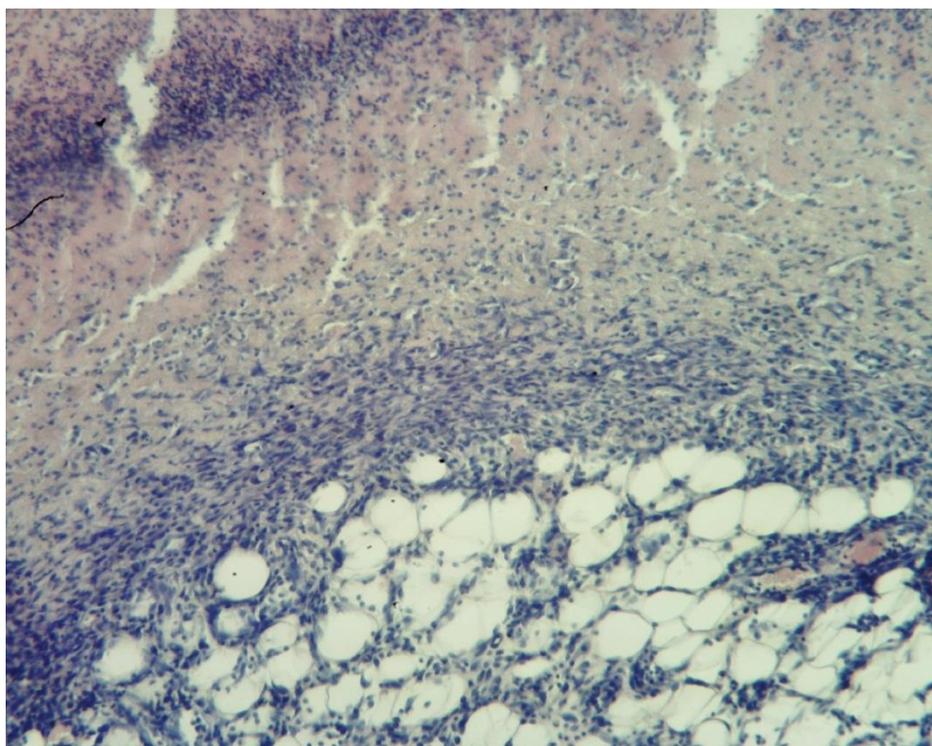
Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп (p<0,05).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups (p<0.05).

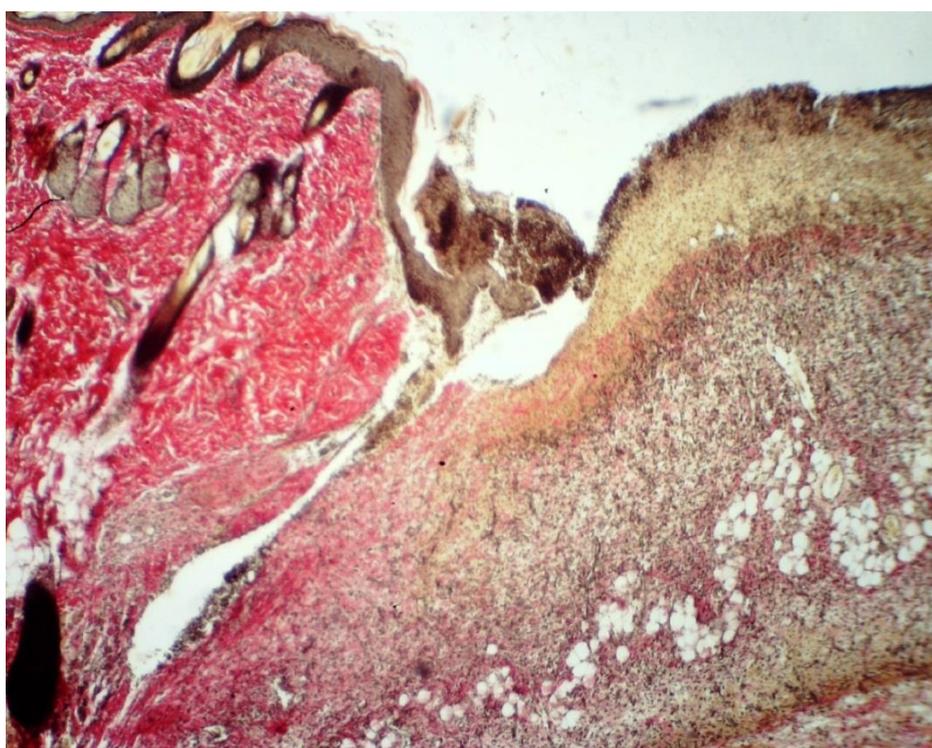
был выражен с тенденцией к абсцедированию, состоял преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов, распространялся в глубину тканей, расслаивая при этом сохраняющие участки дермы. Последние – были резко отечны, с расширенными лимфатическими и кровеносными капиллярами.

На 10 сутки эксперимента у животных опытной группы весь объем раневого кратера полностью заполнялся волокнистой соединительной тканью (рис. 2А, В). При окраске гематоксилин-эозином этот объем волокнистой ткани был интенсивно базофилен, а при окраске по Ван-Гизон отчетливо отмечалось, что это тонкие молодые,

слабо оксифильные незрелые коллагеновые волокна. В целом грануляционная ткань была организована. Отчетливо дифференцировались слои горизонтальных фибробластов, вертикальных сосудов и поверхностный слой. Практически у всех животных в толще слоя горизонтальных фибробластов, над и среди расширенных плазматических капилляров удалось различить скопления активных макрофагов. У всех животных отмечен феномен краевой эпителизации, но различной степени выраженности. Эпидермис формировал почки роста, из которых восстанавливаются производные эпидермиса (рис. 2В).



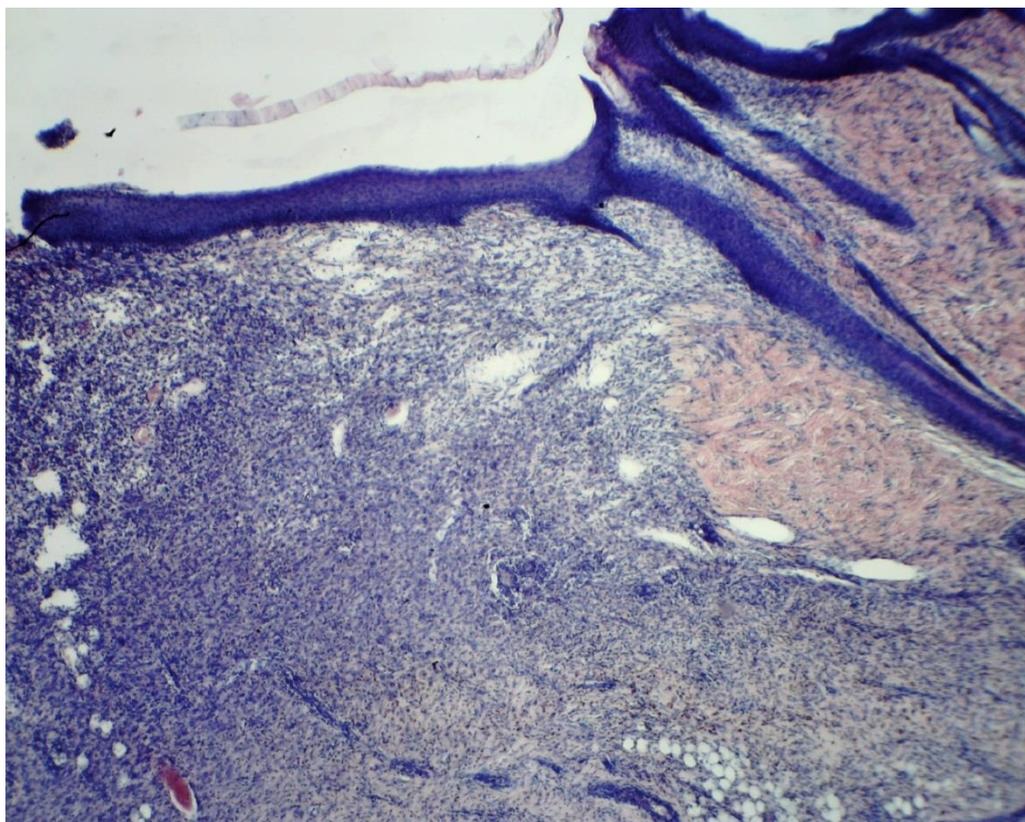
А



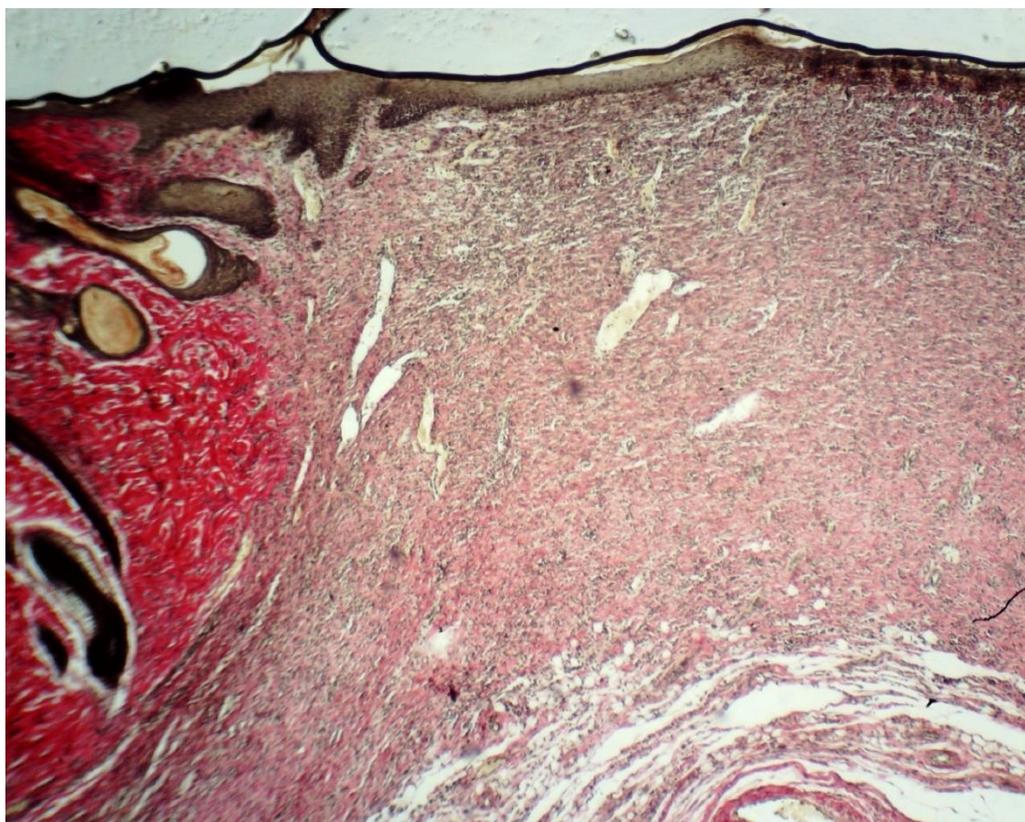
В

Рис. 1. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 5 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином. ув. x100; В – окраска по Ван-Гизон. ув. x40.

Fig. 1. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 5th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining. M x100; B – Van Gieson's stain. M x40.



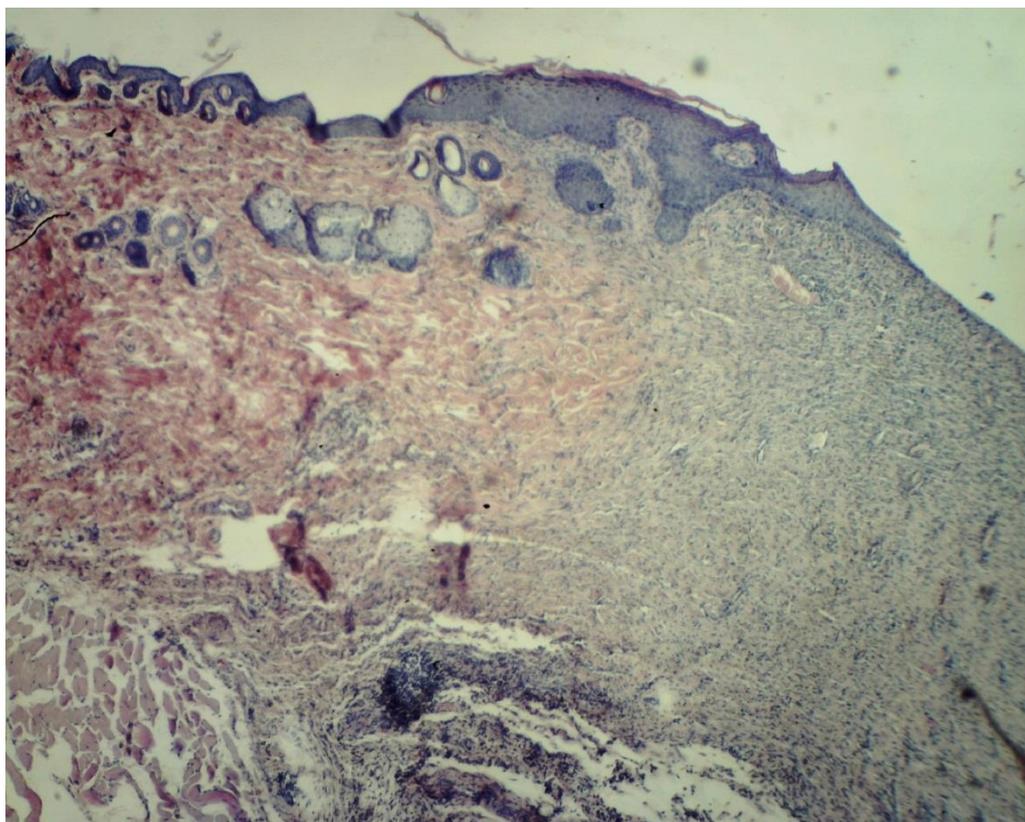
А



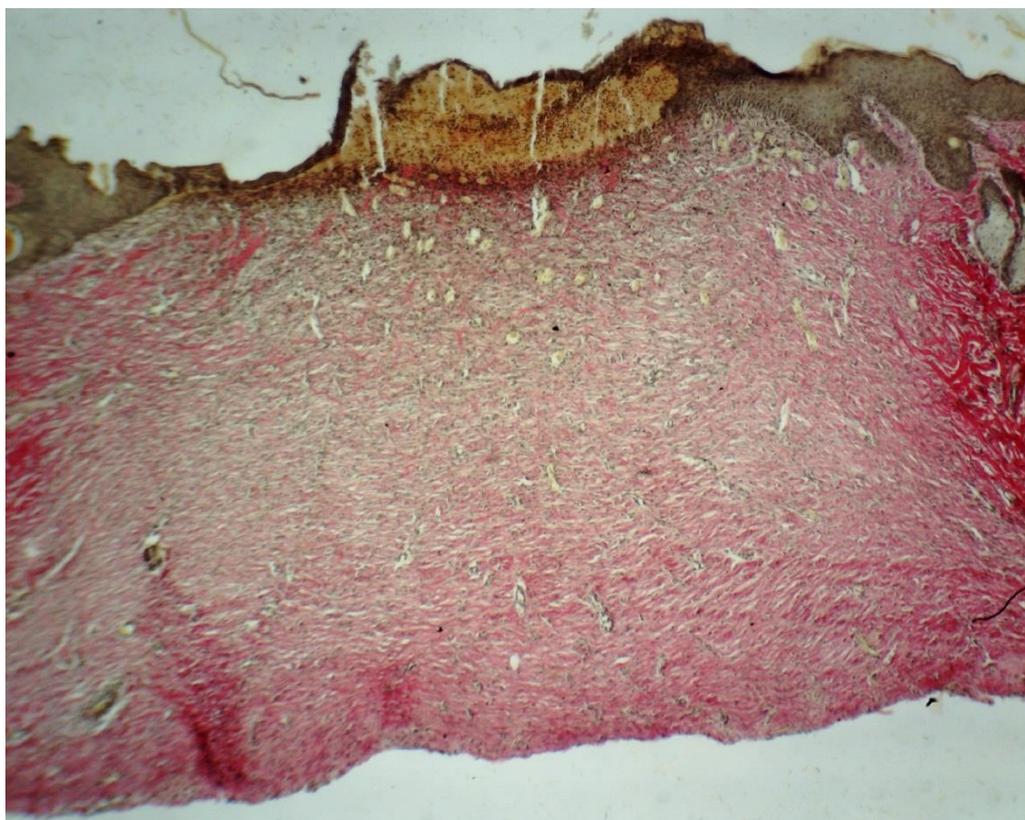
В

Рис. 2. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 10 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином; В – окраска по Ван-Гизон. Ув. х40.

Fig. 2. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 10th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining; B – Van Gieson's stain. M x40.



А



В

Рис. 3. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 15 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином; В – окраска по Ван-Гизон. Ув. x40.

Fig. 3. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 15th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining; B – Van Gieson's stain. M x40.

Пик фазы экссудации был пройден, и типичная для нее морфологическая картина сохранялась только в поверхностных слоях грануляций в центре раны.

В контрольной серии продолжалось заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, которая местами была покрыта фибриновыми наложениями. Инфильтрат распространялся на всю глубину грануляций. Отмечались признаки краевой эпителизации.

К 15 суткам эксперимента раневой дефект в опытной группе был полностью выполнен волокнистой соединительной тканью (рис. 3А, В). При окраске по Ван-Гизон отчетливо было видно, что степень зрелости коллагеновых волокон практически равномерна как по толщине, так и по направлению от края к центру (рис. 3В). У большинства животных была полностью завершена эпителизация поверхности эпидермисом и сформированы закладки для восстановления волосяных фолликулов (рис. 3А, В). Имел место разгар пролиферативной фазы воспаления. В препаратах контрольной серии на 15 сутки продолжался процесс эпителизации раневого дефекта, однако сохранялась умеренная инфильтрация подлежащих тканей. Полной эпителизации ран отмечено не было.

Данные описательной морфологии были подтверждены и при морфометрическом исследовании гистологических срезов ран, где было выявлено, что в опытной группе в клеточном составе на 5 и 10 сутки преобладали макрофаги (52 (39; 68) и 61 (43; 64) % соответственно), процент гранулоцитов уменьшался с 28 (12; 35) на 5 сутки до 9 (3; 11) на 15 сутки, в то же время нарастало процентное содержание фибробластов и лимфоцитов, к 15 суткам преобладали клетки фибробластического ряда. В контрольной серии, напротив, на 5 и 10 сутки процентное содержание гранулоцитов превосходило все остальные клеточные элементы (53 (49; 55) и 47 (43,8; 49,8) % соответственно), причем на 10 сутки различия были статистически значимы ($p < 0,05$). К 15 суткам происходило увеличение количества фибробластов на фоне снижения гранулоцитов (различия между опытной и контрольной группами были статистически значимы, $p < 0,05$).

При измерении концентрации гидроксипролина была выявлена следующая закономерность: с 5 по 15 сутки происходило увеличение его концентрации в опытной группе с 9,7 (9,1; 11,1) до 16,2 (15,9; 16,7) мкг/мг, а в контрольной – с 9 (8,7; 9,7) до 10,2 (9,5; 10,9) мкг/мг. На 10 и 15 сутки различия между группами были статистически значимы ($p < 0,05$), что указывает на более активный синтеза коллагена в опытной группе, нежели в контрольной.

На основании проведенного исследования можно утверждать, что применение хитозан-коллагенового комплекса с включением коллоидного серебра обеспечивало ускоренный темп заживления ран в опытной группе по сравнению с контрольной, данное обстоятельство было доказано на основании планиметрического, гистологического, морфометрического, гематологического методов исследования и гидроксипролинового теста.

Сопоставляя полученные нами результаты с данными литературы, можно сделать вывод, что ранозаживляющее действие хитозан-коллагенового комплекса с включением коллоидного серебра обеспечивается за счет высокой сорбции раневого экссудата и наличия гелеобразования. При этом создаются оптимальные условия заживления раны во влажной среде и ее защита от вторичной контаминации за счет пролонгированного выделения в раневую среду частиц коллоидного серебра [3, 9, 10]. Описано, что хитозан стимулирует пролиферацию клеток и гистоархитектурную организацию тканей, стимулирует эпителиальные клетки и фибробласты, способствует синтезу фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), сохраняя уровень активности естественных факторов роста [6, 12], а коллаген уменьшает активность протеолитических ферментов в ране и, таким образом, способствует формированию грануляционной ткани [2]. Данное обстоятельство нашло подтверждение и в нашем исследовании при описании гистопрепаратов кожи и анализе морфометрических данных. В то же время благодаря сохраненной структуре волокна, коллаген ускоряет росту новой полноценной ткани на месте раневого дефекта, выступая своего рода основой для роста новой ткани, что нашло отражение в нашем исследовании и было подтверждено гидроксипролиновым тестом. Кроме того доказано, что со стороны исследуемых биохимических показателей крови и гистологического изучения микропрепаратов печени и почек отклонений от нормы не выявлено, что говорит об отсутствии пагубного воздействия на данные органы при местном применении хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра.

Таким образом можно заключить, что применение хитозан-коллагенового комплекса положительно влияет на процесс заживления ран, кроме того пролонгированное высвобождение из комплекса коллоидного серебра обеспечивает стойкий противомикробный эффект. Следовательно, данный комплекс можно рекомендовать для дальнейшего исследования на доклиническом, а затем и клиническом уровне.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Бежин А.И. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Липатов В.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Фрончек Э.В. – анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение для публикации рукописи. Григорьян А.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Наимзада М.Д.З. – анализ и интерпретация данных, Лазаренко Е.Д. – анализ и интерпретация данных, Медведева М.А. – анализ и интерпретация данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета от 05.11.2013 г., протокол № 2.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Аралова М.В. Лечение трофических язв нижних конечностей гидроактивными раневыми покрытиями. *Вестник новых медицинских технологий*. 2013; 20(2): 25-28 [Aralova M.V. The use of hydroactive wound coverage for treatment of trophic ulcers of the lower extremities. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2013; 20(2): 25-28 (in Russ.)]
2. Бегма А.Н., Бегма И.В., Хомякова Е.К. Опыт применения коллагеновых повязок и губок Метурacol в хирургической практике. *Русский медицинский журнал*. 2014; 22(17): 1248-1252 [Begma A.N., Begma I.V., Khomyakova E.K. Experience with the use of collagen dressings and sponges Meturacol in surgical practice. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 22(17): 1248-1252 (in Russ.)]
3. Богданов Е.А., Гойхман А.Ю., Шушарина Н.Н., Литвинова Л.С., Новиков М.Ю. Первый опыт применения перевязочного материала с наноструктурированным покрытием серебра в лечении раневого процесса. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2011; 4(3): 561-564. [Bogdanov E.A., Goykhman A.Yu., Shusharina N.N., Litvinova L.S., Novikov M.Yu. The first experience of application of dressings with nanostructured coating of silver in the treatment of wound healing. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii*. 2011; 4(3): 561-564 (in Russ.)]
4. Винник Ю.С., Маркелова Н.М., Соловьева Н.С., Шишацкая Е.И., Кузнецов М.Н., Зуев А.П. Современные раневые покрытия в лечении гнойных ран. *Новости хирургии*. 2015; 23(5): 552-558 [Vinnik Yu.S., Markelova N.M., Solov'yeva N.S., Shishatskaya E.I., Kuznetsov M.N., Zuyev A.P. The current dressings for wound care in the treatment of purulent wounds. *Novosti khirurgii*. 2015; 23(5): 552-558 (in Russ.)] DOI: 10.18484/2305-0047.2015.5.552
5. Головушкина Г.В., Филиппова О.В., Сернов Л.Н. Перспективы использования сорбционных средств для лечения и профилактики гнойных ран. *Евразийское Научное Объединение*. 2017; 1(7): 67-69. [Golovushkina G.V., Filippova O.V., Sernov L.N. Prospects for the use of sorption agents for the treatment and prevention of purulent wounds. *EvrAziyskoye Nauchnoye Ob'yedineniye*. 2017; 1(7): 67-69 (in Russ.)]
6. Зудина И.В., Ведяева А.П., Булкина Н.В., Иванов П.В., Альзубаиди А.Ф. Изучение воздействия хитозана на процесс заживления костного дефекта в экспериментах INVIVO и INVITRO. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2016; 16(2): 171-179 [Zudina I.V., Vedyayeva A.P., Bulkina N.V., Ivanov P.V., Al'zubaidi A.F. To study the effect of chitosan on the process of bone defect healing in experiments INVIVO and INVITRO. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: KHimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2016; 16(2): 171-179 (in Russ.)] DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-171-179.
7. Ибрагимова Р.Р., Кузнецов П.А. Проблема антибиотикорезистентности в современном мире. *Актуальные вопросы современной микробиологии и иммунологии*. 2017; (2): 36-38. [Ibragimova R.R., Kuznetsov P.A. The problem of antibiotic resistance in the modern world. *Aktual'nyye voprosy sovremennoy mikrobiologii i immunologii*. 2017; (2): 36-38 (in Russ.)] URL: <https://scienceforum.ru/2017/article/2017031534>
8. Лазаренко В.А., под ред. *Клиническая хирургия*. Курск: КГМУ, 2017 [Глава 6.2] Лазаренко В.А., Кононенко К.В. Раны и раневой процесс. С. 547-561. [Lazarenko V.A., editor. *Clinical surgery*. Kursk: KSMU, 2017. [Chapter 6.2] Lazarenko V.A., Kononenko K.V. Wounds and wound process. P. 547-561 (in Russ.)]
9. Парамонова О.А., Савченко Ю.П., Гайворонская Т.В., Бабичев С.А., Гербова Т.В., Уварова А.Г. Применение раневого покрытия «Аквасель Ag + повязка Гидрофайбер» в комплексном лечении больных флегмонами лица и шеи. *Клиническая стоматология*. 2017; 3: 44-47. [Paramonova O.A., Savchenko Yu.P., Gayvoronskaya T.V., Babichev S.A., Gerbova T.V., Uvarova A.G. Application of "Aquacel Ag + Hydrofiber dressing" wound covering in complex treatment of patients with face and neck phlegmons. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2017; 3: 44-47 (in Russ.)]
10. Попова Т.В., Толстикова Т.Г., Летагин А.Ю., Жукова Н.А., Бгатова Н.П., Рачковская Л.Н., Котлярова А.А., Бурмистров В.А. Влияние новой мазевой композиции Ag/ТАГА и хитозан-геля на лечение экспериментальных ран различной этиологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15(1): 47-54. [Popova T.V., Tolstikova T.G., Letyagin A.YU., Zhukova N.A., Bgatova N.P., Rachkovskaya L.N., Kotlyarova A.A., Burmistrov V.A. Influence of new ointment composition Ag/TAGA and chitosan-gel on the treatment of experimental wounds of different etiology. *Bulleten' sibirskoy meditsiny*. 2016; 15(1): 47-54.

- rova A.A., Burmistrov V.A. Effect of novel ointment composition ag/taga: chitosan-gel on healing of experimental wounds with different origins. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15(1): 47-54 (in Russ.)] DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-47-54.
11. Привольнев В.И. Местное лечение раневой инфекции: антисептики или антибиотики? *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(2): 131-138. [Privol'nev V.I. Topical therapy of wound infections: antiseptics or antibiotics? *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(2): 131-138 (in Russ.)]
12. Скрыбин К.Г., под ред. *Хитозан: сборник статей*. Москва: Центр «Биоинженерия», 2013. [Статья] Антонов С.Ф. *Материалы для лечения ран и ожогов на основе хитозана*. С. 436-488. [Skryabin K.G., editor. *Chitosan: a collection of articles*. Moscow: Centr «Bioinzheneriya», 2013. [Article] Antonov S.F. Materials for the treatment of wounds and burns based on chitosan. P. 436-488 (in Russ.)] URL: <http://www.prometeus.nsc.ru/acquisitions/14-07-29/cont04.ssi>.
13. Acosta S., Björck M., Wanhainen A. Negative-Pressure Wound Therapy for Prevention and Treatment of Surgical-Site Infections After Vascular Surgery. *British Journal of Surgery*. 2017; 104(2): e75-e84. DOI: 10.1002/bjs.10403.
14. Percival S.L. Restoring balance: biofilms and wound dressings. *J Wound Care*. 2018; 27(2): 102-113. DOI: 10.12968/jowc.2018.27.2.102.
15. Vowden K., Vowden P. Wound Dressings: Principles and Practice. *Surgery (Oxford)*. 2017; 35(9): 489-494. Available from: doi: 10.1016/j.mpsur.2017.06.005.

Поступила в редакцию 20.12.2018

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Бежин А.И., Липатов В.А., Фрончек Э.В., Григорьян А.Ю., Наимзада М.Д.З., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А. Влияние хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса в эксперименте. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):5-16. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01.

EFFECT OF CHITOSAN-COLLAGEN COMPLEX WITH SILVER NANOPARTICLES ON THE WOUND PROGRESS IN EXPERIMENT

© **Bezhin A.I.¹, Lipatov V.A.¹, Fronchek E.V.², Grigoryan A.Yu.¹, Naimzada M.D.Z.¹, Lazarenko E.D.¹, Medvedeva M.A.¹**

¹ **Kursk State Medical University (KSMU)**

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

² **“Evers Group Rus” LLC**

5, Flotskaya St., Moscow, 125493, Russian Federation

Objective: to study the local effects of the chitosan-collagen complex with silver nanoparticles on the wound process, as well as its hepato- and nephrotoxic effects.

Materials and methods. For the study, we used dressing samples based on high-molecular polymers, which were a highly porous sponge made of chitosan-collagen polyelectrolyte complex with the inclusion of colloidal (ultrafine) particles of metallic (zero-valent) silver. The experiment was performed on white Wistar rats. Evaluation of the results was carried out on the basis of planimetric, bacteriological, histological, biochemical, and hematological methods. The results are statistically processed.

Results. It was revealed that by the 15th day the wound area had decreased by 96% of the original size, the maximum healing rate was noted on 1–5 days of treatment, and no significant changes were found in hematological and biochemical blood tests. Histological examination of wound microscopic specimens revealed that by the 15th day the peak of the proliferative phase of inflammation had occurred, the data were also confirmed on the basis of a morphometric study and a hydroxyproline test.

Conclusion. The study revealed that the use of chitosan-collagen complex with silver nanoparticles has a positive effect on the course of the wound process by reducing the microbial contamination of the wound, stimulating tissue regeneration, with no negative effect on the liver and kidneys.

Key words: wound treatment, chitosan-collagen complex, silver nanoparticles, colloidal silver, wound covering, wound process.

Bezhin Alexander I. – DM, Professor, Head of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3776-9449. E-mail: abezin@yandex.ru

Lipatov Vyacheslav A. – DM, Professor, Professor of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Head of the Laboratory of Experimental Surgery and Oncology of Research Institute for Experimental Medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-6121-7412. E-mail: drli@yandex.ru

Fronchek Eduard V. – PhD in Chemistry, Advisor to the General Director, “Evers Group Rus” LLC, Moscow, Russian Federation. E-mail: fronchek6@yandex.ru

Grigoryan Arsen Yu. – PhD in Medicine, Associate Professor, Associate Professor of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: arsgrigorian@mail.ru (correspondence author)

Naimzada M. David Z. – Junior Researcher, Laboratory of Experimental Surgery and Oncology of Research Institute for Experimental Medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-7894-6029. E-mail: david.kursk@gmail.com

Lazarenko Ekaterina D. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Medvedeva Marina A. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The Study protocol was approved by the Regional Ethical Committee under Kursk State Medical University (Protocol No. 2 of 05.11.2013).

AUTHORS CONTRIBUTION

Bezhin A.I. – critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Lipatov V.A. – critical revision of the manuscript for important intellectual content. Fronchek E.V. – data analyzing and interpreting the results, final approval of the manuscript for publication. Grigoryan A.Yu. – developing the research concept and design, data analyzing and interpreting the results. Naimzada M.D.Z. – data analyzing and interpreting the results. Lazarenko E.D. – data analyzing and interpreting the results. Medvedeva M.A. – data analyzing and interpreting the results.

Received 20.12.2018

Accepted 20.06.2019

For citation: Bezhin A.I., Lipatov V.A., Fronchek E.V., Grigoryan A.Yu., Naimzada M.D.Z., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A. Effect of chitosan-collagen complex with silver nanoparticles on the wound progress in experiment. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):5-16. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01.

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕГКИХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БУЛЛЕЗНОЙ ЭМФИЗЕМЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТИМУЛЯЦИИ НЕОКОЛЛАГЕНОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© Иванов С.В., Лазаренко В.А., Юдина С.М., Иванова И.А., Иванов И.С., Клеткин М.Е.,
Горяинова Г.Н., Козьева В.В., Обьедков Е.Г., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Цель: изучить морфологические изменения, происходящие в тканях легкого при буллезной эмфиземе и при терапии ее стимулятором неоколлагеногенеза.

Материалы и методы. Исследование проводилось 60 особях крыс-самцов линии «Вистар». Крысы были подразделены на три равные группы, 1 группа – группа контроля (введение лекарственных препаратов не производилось), 2 – экспериментальная с моделированием буллезной эмфиземы легких (животным в трахею вводили в течение 4 недель раствор карипазиума), 3 – экспериментальная с моделированием буллезной эмфиземы легких с терапией препаратом «Солкосерил» (в течение 14 дней ежедневно вводили внутривенно солкосерил в необходимой дозировке в течение 14 дней). Для выполнения цитоморфометрического исследования при световом микроскопировании использовалось окрашивание препаратов: гематоксилин + эозин (Г+Э). Выполнялось гистологическое исследование микропрепаратов легких лабораторных животных, динамика изменений клеточного состава бронхиальной стенки определялась с помощью количественного подсчета эозинофилов, тучных клеток, лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов, фибробластов.

Результаты. При буллезной эмфиземе наблюдаются изменения всех структурных элементов легкого: сочетание выраженного спазма и расширения бронхиол, деструкция стенок, расширение альвеолярных ходов, формирование множественных воздушных полостей, слущивание эпителия, перибронхиальная инфильтрация и фиброз; нарушения в системе кровообращения: признаки гиперемии и малокровия, сужение просвета артериол, гиалиноз их стенок. При терапии солкосерилом у животных выявлена выраженная гиперемия и расширение сосудов легких, стенки бронхов сохранены, участки деструкции не визуализируются, воздушные полости редко встречающиеся, в основном мелкие, плевро над которыми не повреждена.

Заключение. Развитие буллезной эмфиземы приводит к формированию панацинарной эмфиземы, фиброза, периваскулярной и перибронхиальной инфильтрации (в инфильтрате – увеличение клеток воспалительного ряда), истончению плевро. Были получены данные, свидетельствующие, что препарат «Солкосерил» снижает выраженность деструкции легочной ткани, способствует уменьшению воспалительного процесса.

Ключевые слова: буллезная эмфизема легких, спонтанный пневмоторакс, коллагеноз, солкосерил.

Иванов Сергей Викторович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой хирургических болезней № 1, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-7540-5748. E-mail: IvanovSV@kursksmu.net

Лазаренко Виктор Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, ректор, зав. кафедрой хирургических болезней ФПО, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-2069-7701. E-mail: azaroks@mail.ru

Юдина Светлана Михайловна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-5074-9595. E-mail: ksmu-immunology@mail.ru

Иванова Инна Анатольевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-7331-6255. E-mail: ia.ivanova@mail.ru

Иванов Илья Сергеевич – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры хирургических болезней № 1, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-4408-961X. E-mail: ivanov.is@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Клеткин Максим Евгеньевич – канд. мед. наук, соискатель кафедры хирургических болезней № 1, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3886-5272. E-mail: kletkin-max@mail.ru

Горяинова Галина Николаевна – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-8856-0616. E-mail: lewis77@yandex.ru

Козьева Виктория Владимировна – клинический ординатор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-2234-7959. E-mail: victoriya_vl@mail.ru

Обьедков Евгений Геннадьевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры хирургических болезней № 1, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-0566-1476. E-mail: evgenij-obedkov@yandex.ru

Лазаренко Екатерина Дмитриевна – студентка, КГМУ, г. Курск. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Медведева Марина Алексеевна – студентка, КГМУ, г. Курск.

На настоящий момент единого мнения о причинах развития спонтанного пневмоторакса не существует, однако наибольшей известностью обладает теория, в соответствии с которой морфологической основой развития данной патологии является буллезная эмфизема

легких [8, 10]. Это заболевание легких представляет собой особую форму эмфиземы, которая сопровождается деструкцией стенок альвеол, их атрофией с последующим формированием булл и блеб. Данные об эпидемиологии спонтанного пневмоторакса разнятся в зависимости от реги-

онов, на сегодняшний день актуальной является информация, что распространенность его среди пациентов мужского пола составляет от 7 до 28 человек на 100 тысяч человек, а среди больных женского пола от 1 до 6 на 100 тысяч [10, 11]. Факторами риска возникновения данной патологии прежде всего являются молодой возраст, мужской пол, отягощенный семейный анамнез по этому заболеванию, астенический тип телосложения, табакокурение. Обращает на себя внимание и тот факт, что среди неотложных состояний в торакальной хирургии данная патология составляет более половины случаев [1, 6]. При этом выбор тактики лечения спонтанного пневмоторакса неоднозначен, литературные данные варьируются от строго консервативного подхода к лечению до двусторонней резекции апикальных сегментов легких с профилактической целью [2, 12]. Однако стоит учесть, что использование лишь хирургических методов не позволяет уменьшить частоту рецидивов заболевания. Даже при проведении адекватного оперативного вмешательства, осуществлении облитерации плевральной полости и отсутствии осложнений в послеоперационном периоде риск повторного формирования буллезных изменений в легких остается высок [3, 13]. Из этого следует вывод, что необходимо должное внимание уделить вопросам реабилитации больных, которые перенесли спонтанный пневмоторакс. Существует несколько методик комплексной консервативной терапии, при этом в каждой из них особое внимание уделяется стимуляции коллагенообразования. Назначение таких препаратов, как витамин С (кислота аскорбиновая), витамин В, фармакологических лечебных формы меди, кальция, цинка и магния приводит к предотвращению прогрессирования буллезных изменений, а также ведет к уменьшению возможных рецидивов спонтанного пневмоторакса [9, 14]. Современным препаратом, обладающим выраженным кооллагеностимулирующим действием, является солкосерил, который включен в рекомендации по лечению синдрома дисплазии соединительной ткани [4, 7]. Однако данный препарат обладает также и репаративным воздействием на ткани: влияет на мигрирование фибробластов и кератиноцитов и усиливает рост кератиноцитов и пролиферацию фибробластов. Таким образом, поиск тактических решений при спонтанном пневмотораксе, выбор пути реабилитации больных буллезной эмфиземой является важной задачей в хирургической практике [5, 15].

Целью работы является изучение морфологических изменений в легочной паренхиме при буллезной эмфиземе и при терапии заболевания солкосерилом, а также проведение сравни-

тельного анализа полученных данных и оценка эффективности стимуляции неоколлагеногенеза препаратом солкосерил.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена при использовании 60 особей крыс-самцов средним весом 250 г линии «Wistar». Тип животных был определен на основании решения от 10.10.2016, протокол № 1 экспертного совета по хирургическим специальностям. Решение согласовано с заключением Регионального этического комитета при ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. Все животные проходили карантин на базе того же учебного учреждения.

Экспериментальные исследования, выполняемые на животных, были осуществлены в соответствии с Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных целях, и Директивой Совета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. по согласованию законов, правил, административных распоряжений стран-участниц по отношению к защите животных, которых используют для научных целей, и одобренной Советом Европы в г. Страсбурге в 1986 году.

Экспериментальные животные подразделены на 3 исследуемые группы.

Группа № 1 – контрольная (n=20). Содержались в одинаковых условиях с животными других групп: с естественным суточным изменением освещения, соблюдались оптимальные температура ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) и влажность (60%), свободный доступ к воде. Применения лекарственных форм животным не делали. Введение лекарственных препаратов в этой группе не производилось. Выводились из исследования на 29-й день.

Группа № 2 – опытная (n=20). У животных производилось моделирование буллезной эмфиземы. Животным в трахею вводили раствор карипазима 20 ЕД в 0,4 мл 0,9% раствора хлорида натрия на протяжении месяца, 1 раз в 2 дня. После этого животных выводили из исследования на 29-й день.

Группа № 2 – опытная (n=20). Группа животных у которых проводилось моделирование буллезной эмфиземы и использование препарата солкосерил. Вначале у крыс выполняли моделирование буллезной эмфиземы (аналогично группе № 2). В дальнейшем, через 2 недели, каждый день внутрибрюшинно вводили препарат «Солкосерил» в дозировке 80 мг/кг, в разведении 1:1 на изотоническом растворе хлорида натрия. Первоначальное введение препарата «Солкосерил» выполнялось на следующий день

после прекращения моделирования буллезной эмфиземы. Животные были выведены из эксперимента на 43-й день.

Методики, использованные в исследовании, имеют высокую степень достоверности. Для выполнения цитоморфометрического исследования при световом микроскопировании использовалось окрашивание препаратов: гематоксилин+эозин (Г+Э). Выполнялось гистологическое исследование микропрепаратов легких лабораторных животных с целью определения морфологических изменений в тканях, происходящих при развитии буллезной эмфиземы и при терапии солкосерилом. Оценка динамики изменений клеточного состава бронхиальной стенки проводилась с помощью количественного подсчета эозинофилов, тучных клеток, лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов, фибробластов (подсчет осуществлялся для всех клеток фибробластического ряда – от юных форм фибробластов до фиброцитов). Распознавание отдельных видов клеток выполнялось по морфологическим признакам. Анализ изменения клеточного инфильтрата свидетельствует о выраженности воспалительной реакции в стенке бронхиол.

Результаты исследований оценивались на основании статистической обработки с применением функционала программных приложения Microsoft Excel-2007 и STATISTICA 6.0. Выполнялось определение среднего значения количественного показателя (M), стандартной ошибки среднего (m). При помощи коэффици-

ента Стьюдента (t) оценивалась существенность различий средних значений. При помощи рангового коэффициента корреляции Спирмена выполнялся корреляционный анализ. Критический уровень значимости (p) считался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические изменения легких у крыс при моделировании эмфиземы.

При изучении морфологической картины препаратов легких, полученных от крыс из второй группы, были выявлены как изменения со стороны кровеносного русла, так и патологические изменения непосредственно легочных структур.

Так, кровенаполнение ткани легкого неравномерное, отмечается сочетание участков выраженной гиперемии с участками малокровия, которые обусловлены спазмом артерий и их запускованием. Стенки артерий утолщены, склерозированы, реже встречаются артериолы с признаками гиалиноза (резко суженные, с толстыми эозинофильными гомогенными стенками), а в единичных случаях наблюдаются процессы некроза в их стенках. Визуализируются и мелкие сосуды с признаками васкулита, в этом случае наблюдается густая инфильтрация их стенок (рис. 1).



Рис. 1. Моделирование буллезной эмфиземы без применения стимулятора синтеза коллагена. Инфильтрация и гиперемия тканей легкого. Слизивание эпителия и выраженный спазм бронха. Гематоксилин+эозин. х80.

Fig. 1. Modelling bullous emphysema without the use of a collagen synthesis stimulator. Infiltrate and hyperemia of lung tissues. Desquamation of epithelium and marked bronchial spasm. Hematoxil-in+eosin. M x80.

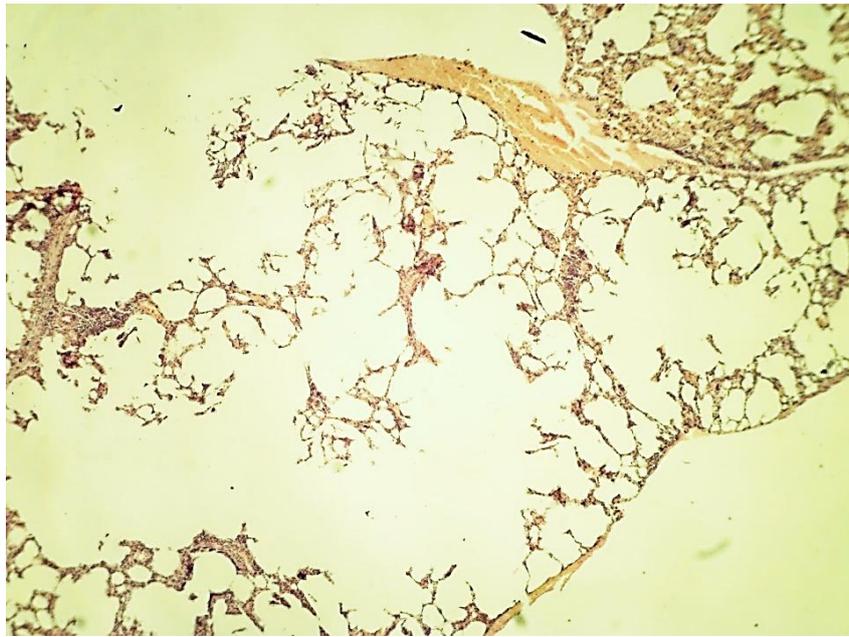


Рис. 2. Моделирование буллезной эмфиземы без применения стимулятора синтеза коллагена. Истончение плевры и большое число субплевральных воздушных полостей. Гематоксилин+эозин. x 40.

Fig. 2. Modelling bullous emphysema without the use of a stimulator of collagen synthesis. Pleural thinning and a large number of subpleural air cavities. Hematoxylin+eosin. Mx 40.

При микроскопировании препаратов и прицельном изучении патологических изменений в плевре отмечены следующие факты: различная толщина плевры, комбинация очагов ее истончения, отека соединительнотканых волокон, некроза отдельных клеток и набухание мезотелия. Многочисленные макроскопические полости размерами 2-5 мм располагаются субплеврально и аналогичны буллам у людей (по диаметру). Имеет место выбухание прилежащей плевры и при микроскопии определяются участки разрушенной плевры.

Подлежащая плевра включает в себя плотный инфильтрат, состоящий из скопления фибробластов, тучных клеток эозинофилов и лимфоцитов.

Сами бронхи и бронхиолы расширены, отмечаются участки слущенного эпителия и плоскоклеточной метаплазии, в просветах многих содержится экссудат. Также выявлена инфильтрация лимфоцитами, нейтрофилами, эозинофилами, тучными клетками бронхов и перибронхиальной ткани. Но наряду с расширенными бронхами бронхиолами также встречаются спазмированные бронхиолы с участками некроза и разрыва их стенок.

Альвеолярные ходы и альвеолы резко дилатированы, а у слизистой оболочки большинства бронхов отсутствует складчатость. Вплоть до плевры определяются сформированные крупные бронхиоларно-альвеолярные полости. Все вышеперечисленное демонстрирует наличие признаков выраженной панацинарной эмфиземы с развитием больших полостей, содержащих

воздух. Определяется зона буллезной эмфиземы, которая сочетается с фокусами субплеврального фиброза и утолщением плевры (рис. 2).

Действия препарата «Солкосерил» на процессы синтеза коллагена в легких экспериментальных животных крыс при создании модели буллезной эмфиземы.

При изучении гистологических препаратов легких крыс третьей группы также отмечается гиперемия, особенно в субплевральных отделах, однако более выраженная, чем в группе № 2. Стенки артерий утолщены, у части сосудов определяется гиалиноз сосудистой стенки. Вены и венулы, капилляры стенок альвеол сильно расширены, полнокровны. Определяемый плотный инфильтрат около вен состоит из лимфоцитов и эозинофилов (рис. 3).

Субплеврально визуализируются достаточно мелкие бронхоальвеолярные воздушные полости. Плевра над этими полостями сохранена, не повреждена и не истончена. Имеют место мелкие альвеолярные полости в апикальной части легкого (рис. 4).

При изучении плевры и субплевральных пространств очаги фиброза и инфильтраты выявлены не были. По сравнению с группой № 2 определяются расширенные терминальные и респираторные бронхиолы, более равномерна воздушность легочной ткани. Нами не отмечено пролиферации эпителия и метаплазии эпителия в бронхах и бронхиолах.

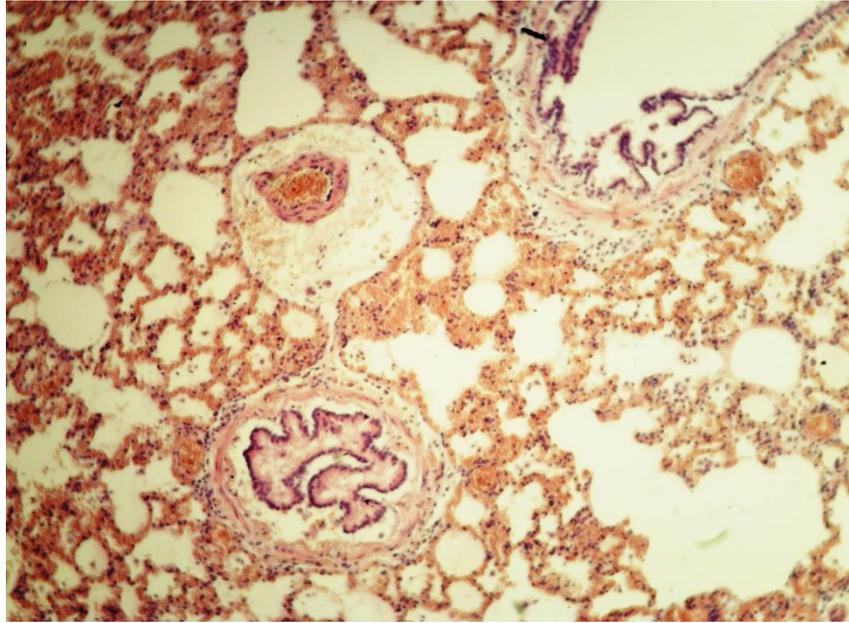


Рис. 3. Моделирование буллезной эмфиземы с использованием стимулятора синтеза коллагена солкосерила. Утолщение стенок сосудов и выраженная гиперемия, расширение периваскулярного пространства. Случивание эпителия бронхиол и гипертрофические изменения мышечного слоя. Гематоксилин+эозин. x 100.

Fig. 3. Modelling bullous emphysema with the use of Solcoseryl as a stimulator of collagen synthesis. Thickening of blood vessels walls and severe hyperemia, expansion of perivascular space. Desquamation of the epithelium of bronchioles and hypertrophic changes in the muscular layer. Hematoxilin+eosin. M x 100.

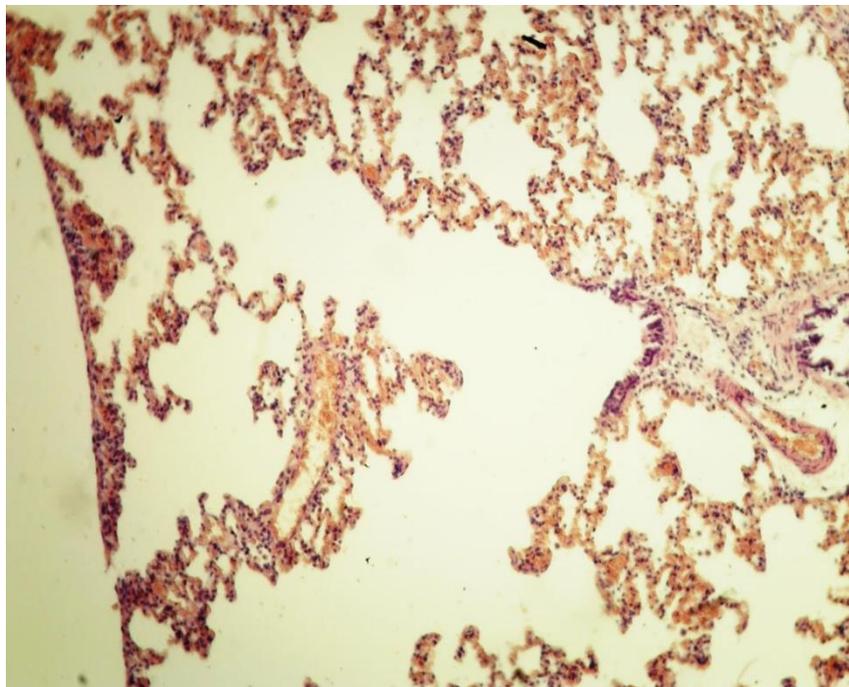


Рис. 4. Моделирование буллезной эмфиземы с использованием стимулятора синтеза коллагена солкосерила. Субплевральное расширение бронхиол. Отсутствие клеточных инфильтратов и субплеврального фиброза. Гематоксилин+эозин. x 80.

Fig. 4. Modelling bullous emphysema with the use of Solcoseryl as a stimulator of collagen synthesis. Subpleural extension of bronchial tubes. The lack of cellular infiltration and subpleural fibrosis. He-matoxilin+eosin. M x 80.

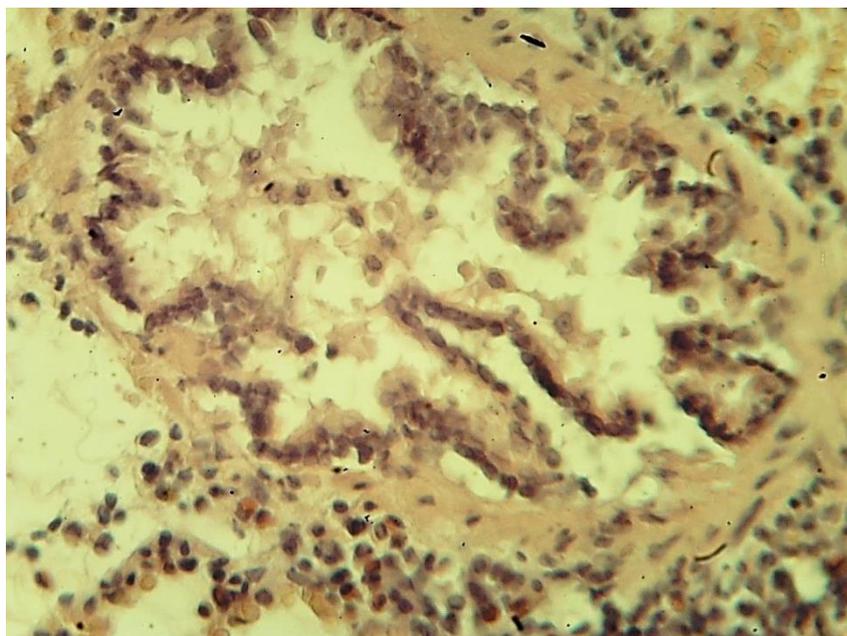


Рис. 5. Участки слущивания эпителия бронхиол. Перибронхиальные инфильтративные изменения. Модель буллезной эмфиземы с терапией солкосериллом. Гематоксилин+эозин. х 400.

Fig. 5. Desquamation of epithelium of bronchioles. Peribronchial infiltrative changes. Model of bullous emphysema with Solkoseryl therapy. Hematoxilin+eosin. M x 400.

Таблица 1

Table 1

Состав клеточного инфильтрата в перибронхиальной области легких крыс групп № 1, № 2 и № 3 (%)

The composition of the cellular infiltrate in the peribronchial region of the rats' lungs in groups N 1, N 2 and N 3 (%)

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3
Эозинофилы Eosinophils	0,83±0,04*	16,43±2,79*	11,28±2,16*
Тучные клетки Mast cells	0,37±0,032*	1,77±0,39*	0,68±0,09*
Лимфоциты Lymphocytes	18,44±0,69*	33,32±3,05*	25,25±1,42*
Нейтрофилы Neutrophils	16,15±0,40*	5,87±0,75*	15,70±0,79*
Макрофаги Macrophages	33,18±0,56*	18,44±1,79*	23,79±1,55*
Фибробласты Fibroblasts	31,05±0,38*	24,19±1,66	23,22±0,85

Примечание: * – критерий достоверности $p \leq 0,05$ в сравнении между исследуемыми группами.

Note: * – criterion of reliability $p \leq 0.05$ in comparison between the studied groups.

Перибронхиальные клеточные инфильтраты преимущественно состоят из нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов и единичных сидерофагов (рис. 5).

Таким образом, использование препарата, оказывающего опосредованное стимулирование синтеза коллагена у крыс, которым ранее выполнялось моделирование буллезной эмфиземы, приводит к более выраженной гиперемии и расширению сосудов легких. Периваскулярно

отмечается накопление инфильтрата, состоящего из лимфоцитов, тучных клеток и эозинофилов. Кроме того, перибронхиальный инфильтрат отличается меньшим содержанием тучных клеток. В легких экспериментальных животных нами отмечено: наличие воздушных полостей, чаще мелких субплевральных образований, с неповрежденной над ними плеврой, и отсутствие очагов деструкции стенок бронхов и бронхиол.

Клеточный состав перибронхиальных областей в легких крыс в группе контроля, при моделировании буллезной эмфиземы и при терапии ее солкосерилом.

В данном случае исследовалось число клеток фибробластического ряда, макрофагов, эозинофилов, лимфоцитов, нейтрофилов и тучных клеток. Абсолютные значения переводили в относительные величины (таблица 1).

При сравнении данных, полученных от группы животных № 2 с группой контроля – № 1, наблюдается патологический процесс, сопровождающийся достоверным повышением процента эозинофилов (с $0,83 \pm 0,04\%$ до $16,43 \pm 2,79\%$), тучных клеток (с $0,37 \pm 0,03\%$ до $1,77 \pm 0,39\%$) и лимфоцитов (с $18,44 \pm 0,69\%$ до $33,31 \pm 3,05\%$) ($p < 0,05$), что вызвано возникновением аллергического компонента на введение в трахею инородного белка – «карипазим». Большинство клеток перибронхиального инфильтрата составляют клетки лейкоцитарного ряда, что обусловлено выраженной воспалительной реакцией. Кроме того, нами выявлено достоверное уменьшение процентного уровня нейтрофилов (с $16,15 \pm 0,40\%$ до $5,87 \pm 0,75\%$), за счет увеличения процентного количества других клеток лейкоцитарного ряда. Число макрофагов и клеток фибробластического ряда снижается с $33,18 \pm 0,56\%$ до $18,44 \pm 1,79\%$ и с $31,05 \pm 0,38\%$ до $24,19 \pm 1,66\%$ соответственно, что вызвано повышением абсолютного числа клеток, характерных для острого периода воспаления.

По сравнению с опытной группой № 2, в которой выполнялось моделирование буллезной эмфиземы без терапии, у крыс в группе № 3 с терапией препаратом «Солкосерил» выявляется достоверное снижение процента эозинофилов с $16,43 \pm 2,79\%$ до $11,28 \pm 2,16\%$), тучных клеток с $1,77 \pm 0,39\%$ до $0,68 \pm 0,09\%$ и лимфоцитов с $33,32 \pm 3,05\%$ до $25,25 \pm 1,42\%$ ($p < 0,05$). Это вызвано опосредованным противовоспалительным действием солкосерила. Вместе с тем нами выявлено достоверное повышение процентного числа макрофагов с $18,44 \pm 1,79\%$ до $23,79 \pm 1,55\%$ и нейтрофилов с $5,87 \pm 0,75\%$ до $15,70 \pm 0,79\%$ ($p < 0,05$). Это указывает на достоверную тенденцию, демонстрирующую нормализацию показателей, характеризующих процессы воспаления. Процентное содержание клеток фибробластического ряда недостоверно.

На сегодняшний день увеличивается число пациентов с диагнозом буллезная эмфизема легких, спонтанный пневмоторакс. Абсолютное большинство больных составляют люди молодого, трудоспособного возраста. Важной особенностью течения этого заболевания является склонность к его рецидивированию. Процент рецидивов после первичного развития спонтан-

ного пневмоторакса без выполнения хирургического пособия достигает 12-55%. При повторном эпизоде спонтанного пневмоторакса процент рецидивов достигает 50-65%, а после третьего – вероятность развития рецидивов близится к ста процентам. В различных научных источниках сейчас описано множество методик консервативной терапии спонтанного пневмоторакса. Сравнительные проспективные исследования демонстрируют клиническую эффективность при использовании стимуляторов синтеза коллагена. По данным компьютерной томографии органов грудной клетки, стимуляция коллагеногенеза предотвращает прогрессирование распространения и увеличение размера буллезной трансформации легких. У больных без аналогичной терапии подобные изменения только прогрессируют. Помимо этого, применение стимуляторов синтеза коллагена достоверно уменьшает вероятность возникновения пневмоторакса с контрлатеральной стороны из-за снижения частоты рецидивирования спонтанного пневмоторакса.

В данном исследовании в качестве стимулятора синтеза коллагена нами использовался препарат «Солкосерил», который является биологически и химически стандартизированным депротеинизированным диализатом из крови здоровых молодых телят. Данный препарат содержит характерные для плазмы крови соли и микроэлементы, основными элементами этого состава являются низкомолекулярные пептиды и производные нуклеиновых кислот.

Нами отмечено, что развитие буллезной эмфиземы сопровождается изменениями не только в структурах бронхов, бронхиол и плевры, но и в сосудистом русле. Патологический процесс сопровождается и изменениями в клеточном составе перибронхиального инфильтрата. Так, было выявлено развитие панацитарной эмфиземы, фиброза, периваскулярной инфильтрации, истончения плевры, а также признаки интенсивно протекающей воспалительной реакции (выраженное увеличение клеток лейкоцитарного ряда).

Применение препарата «Солкосерил» снижает клинические проявления деструктивных и воспалительных патологических изменений в легких. Стенки бронхиол и бронхов сохранены, не визуализируются фокусы некроза и метаплазии. При этом зона слушивания эпителия небольшая и представлена в меньшем объеме. Воздушные полости встречаются значительно реже (мелких размеров и расположены субплеврально), участков повреждения плевры также не наблюдается, что говорит о выраженном репаративном действии препарата «Солкосерил». Кроме того, выявлено и уменьшение клеток

воспалительного ряда в инфильтрате, увеличение относительного количества макрофагов и клеток фиброцитарного ряда, из совокупности данных фактов следует вывод, что препарат «Солкосерил» обладает и значительными противовоспалительными свойствами.

На основании полученных данных были сформулированы следующие выводы.

Моделирование буллезной эмфиземы в эксперименте вызывает периваскулярную и перибронхиальную инфильтрацию, истончение плевры, фиброз и панацинарную эмфизему.

Моделирование в легких крыс буллезной эмфиземы приводит к повышению процентного числа клеточных элементов, характеризующих воспаление.

При стимуляции синтеза коллагена при помощи препарата «Солкосерил» выраженность деструктивных и дегенеративных, воспалительных патологических изменений достоверно снижается.

Достоверное ($p < 0,05$) снижение процентного содержания клеточных элементов, характеризующих воспаление у животных группы № 3, вызвано опосредованным противовоспалительным эффектом использования препарата «Солкосерил».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Иванов С.В. – разработка концепции и дизайна исследования, редактирование. Лазаренко В.А. – разработка концепции и дизайна исследования, редактирование. Юдина С.М. – разработка концепции и дизайна исследования, редактирование. Иванова И.А. – разработка концепции исследования, подготовка текста. Иванов И.С. – сбор материала, анализ полученных данных, подготовка текста. Клеткин М.Е. – разработка концепции исследования, подготовка текста, сбор материала, анализ полученных данных. Горяинова Г.Н. – подготовка текста, анализ полученных данных, редактирование. Козьева В.В. – подготовка текста, сбор материала, анализ полученных данных. Обьедков Е.Г. – сбор материала, анализ полученных данных. Лазаренко Е.Д. – сбор материала, анализ полученных данных. Медведева М.А. – сбор материала, анализ полученных данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Экспериментальные исследования, выполняемые на животных, были выполнены на основании

соответствия с Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных целях, и Директивой Совета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. по согласованию законов, правил, административных распоряжений стран-участниц по отношению к защите животных, которых используют для научных целей, и одобренной Советом Европы в г. Страсбурге в 1986 году. Протокол согласования с региональным этическим комитетом № 1 от 10.10.2016.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Афендулов С.А., Мошин С.А., Ковалев М.В. Хирургическая тактика при спонтанном пневмотораксе (с комментарием редколлегии). *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2010; 6: 31-35. [Afandulov S.A., Moshchin S.A., Kovalev M.V. Surgical tactics for spontaneous pneumothorax (with editorial board commentary). *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2010; 6: 31-35 (in Russ.).]
2. Вершинина М.В., Говорова С.Е., Нечаева Г.И., Ратынская И.А. Лечение пациентов с буллезной эмфиземой на фоне дисплазии соединительной ткани в первичном звене здравоохранения. *Лечащий врач*. 2011; 9: 14. [Vershinina M.V., Govorova S.E., Nechaeva G.I., Ratynskaya I.A. Treatment of patients with bullous emphysema against the background of connective tissue dysplasia in the primary level of health care. *Lechashchiy vrach*. 2011; 9: 14 (in Russ.).]
3. Говорова С.Е., Вершинина М.В. Эффективность программы реабилитации у пациентов с буллезной эмфиземой и спонтанным пневмотораксом в центре дисплазии соединительной ткани. *Омский научный вестник*. 2011; 1(104): 110-112. [Govorova S.E., Vershinina M.V. Effectiveness of the rehabilitation program in patients with bullous emphysema and spontaneous pneumothorax in the center of connective tissue dysplasia. *Omsk Scientific Bulletin*. 2011; 1(104): 110-112 (in Russ.).] DOI: 10.14300/mnnc.2015.10006
4. Корымасов Е.А., Беньян А.С., Пушкин С.Ю., Тепикин А.А., Оганесян М.С., Кузнецова М.С., Камеев И.Р. Анализ ошибок, опасностей и осложнений в лечении спонтанного пневмоторакса. *Тольяттинский медицинский консилиум*. 2013; 3-4: 44-51. [Korymasov, E.A., Benyan, A.S., Pushkin S.Yu., Tepikin, A.A., Oganesyanyan M.S., Kuznetsova M.S., Kameev I.R., Analysis of Errors, Dangers, and Complications treatment of spontaneous pneumothorax. *Tol'yattinskiy meditsinskiy konsilium*. 2013; 3-4: 44-51 (in Russ.).]
5. Михеев А.В. Этиология первичного спонтанного пневмоторакса (обзор литературы). *Земский врач*. 2015; 4(28): 14-19. [Mikheev A.V. Etiology of primary spontaneous pneumothorax (literature review). *Zemskiy vrach*. 2015; 4(28): 14-19 (in Russ.).]
6. Нечаева Г.И., Яковлев В.М., Конев В.П., Друк И.В., Морозов С.Л. Дисплазия соединительной ткани: основные клинические синдромы, формулировка диагноза, лечение. *Лечащий врач*. 2008; 2: 22-25. [Nechaeva G.I., Yakovlev V. M., Konev V.P.,

- Druk I.V., Morozov S.L. Connective tissue dysplasia: main clinical syndromes, diagnosis formulation, treatment. *Lechashchiy vrach*. 2008; 2: 22-25 (in Russ.).]
7. Пахомов Г.Л., Худайбергенов Ш.Н., Хаялиев Р.Я. К вопросу о тактике хирургического лечения неспецифического спонтанного пневмоторакса. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2010; 3(2): 103-111. [Pakhomov G.L., Khudaibergenov Sh.N., Khayaliev R.Ya. Concerning the tactics of surgical treatment of nonspecific spontaneous pneumothorax. *Journal of experimental and clinical surgery*. 2010; 3(2): 103-111 (in Russ.).]
 8. Рекомендации ВНОК по лечению наследственных нарушений (дисплазий) структуры и функции соединительной ткани (2008). *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. – 2009; 59(7): 72-96. [Recommendations VNOK for the treatment of hereditary disorders (dysplasias) of the structure and function of the connective tissue (2008). *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2009; 59(7): 72-96 (in Russ.).]
 9. Суздальцев А.М. Хирургическая тактика лечения спонтанного пневмоторакса у пациентов с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 26(3-2): 85-88. [Suzdaltsev A.M. Surgical tactics of treating spontaneous pneumothorax in patients with undifferentiated connective tissue dysplasia. *The Siberian Medical Journal*. 2011; 26(3-2): 85-88 (in Russ.).]
 10. Темирбулатов В.И., Иванов И.С., Окунев О.А., Клеткин М.Е., Сарычев А.В. Рецидив буллезной эмфиземы легких, осложненной спонтанным пневмотораксом, после радикальной буллэктоми. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2017; 10(1): 32-35. [Temirbulatov V.I., Ivanov I.S., Okunev O.A., Kletkin M.E., Sarychev A.V. Recurrence of bullous pulmonary emphysema, complicated by spontaneous pneumothorax, after radical bullectomy. *Journal of experimental and clinical Surgery*. 2017; 10(1): 32-35 (in Russ.).]
 11. Трисветова Е.Л. Стратегия и тактика лечения пациентов с наследственными нарушениями соединительной ткани. *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье*. 2015; 2(14): 80-92. [Trisvetova E.L. Strategy and tactics for treating patients with hereditary connective tissue disorders. *Mezhdunarodnyye obzory: klinicheskaya praktika i zdorov'ye*. 2015; 2(14): 80-92 (in Russ.).]
 12. Филатова А.С., Гринберг Л.М. Спонтанный пневмоторакс – этиопатогенез, патоморфология (обзор литературы). *Уральский медицинский журнал*. 2008; 13(58): 82-89. [Filatova A.S., Grinberg L.M. Spontaneous pneumothorax – etiopathogenesis, pathomorphology (literature review). *Ural Medical Journal*. 2008; 13(58): 82-89 (in Russ.).]
 13. Цеймах Е.А., Левин А.В., Шойхет Я.Н., Зимонин П.Е., Цеймах И.Я., Самуйленков А. М., Синявин А.В. Применение эндобронхиального клапана в комплексном лечении спонтанного пневмоторакса. *Пульмонология*. 2009; 6: 118-122. [Tseymah E.A., Levin A.V., Shoykhet Ya.N., Zimonin P.E., Tseymah I.Ya., Samuilenkov A.M., Sinyavin A.V. Use of the endobronchial valve in the complex treatment of spontaneous pneumothorax. *Pul'monologiya*. 2009; 6: 118-122 (in Russ.).]
 14. Buchmayer F., Pleiner J., Elmlinger M.W., Lauer G., Nell G., Sitte H.H. An@: a biological ductovegig for more than 5 decades. *Wien Med. Wochenschr*. 2011; 161(3-4): 80-88. DOI: 10.1007/s10354-011-0903-9
 15. Morimoto T., Fukui T., Koyama H., Noguchi Y., Shimbo T. Optimal Strategy for the First Episode of Primary Spontaneous Pneumothorax in Young Men. *J Gen Intern Med*. 2002; 17(3): 193-202. DOI: 10.1046/j.1525-1497.2002.10636.x

Поступила в редакцию 11.03.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Иванов С.В., Лазаренко В.А., Юдина С.М., Иванова И.А., Иванов И.С., Клеткин М.Е., Горьяинова Г.Н., Козьева В.В., Об'едков Е.Г., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А. Цитоморфологические изменения в легких при моделировании буллезной эмфиземы в зависимости от стимуляции неоколлагеногенеза в эксперименте. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):17-26. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/02.

CYTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN LUNGS WHEN MODELLING BULLOUS EMPHYSEMA DEPENDING ON THE STIMULATION OF NEOCOLLAGENOGENESIS IN EXPERIMENT

© Ivanov S.V., Lazarenko V.A., Yudina S.M., Ivanova I.A., Ivanov I.S., Kletkin M.E., Goryainova G.N., Koziyeva V.V., Ob'edkov E.G., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A.

Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

Objective: to study the morphological changes occurring in lung tissues in bullous emphysema and after its treatment by stimulating neocollagenogenesis.

Materials and methods. The study was conducted in 60 Wistar male rats. The animals were divided into 3 equal groups, 1 group – control group (no drug administration), 2 – a group with experimentally simulated bullous emphysema

(Caripazim solution was administered into rats' trachea for 4 weeks), 3 – a group with modelled bullous emphysema with solcoseryl therapy (animals were modelled bullous emphysema, like those in group 2, then they were daily administered Solcoseryl intraperitoneally in the required dosage for 14 days). To perform a cytomorphometric study with light microscopy, the drugs were stained: hematoxylin + eosin (H+E). Histological examination of laboratory animals' pulmonary micro-preparations was carried out; the dynamics of changes in the cell composition of the bronchial wall was determined by quantitative counting eosinophils, mast cells, lymphocytes, neutrophils, macrophages, and fibroblasts.

Results. Bullous emphysema changes all structural elements of lungs: a combination of pronounced spasm and expansion of bronchioles, destruction of the walls, expansion of the alveolar passages, formation of multiple air cavities, epithelium exfoliation, peribronchial infiltration and fibrosis; disorders in the circulatory system: signs of hyperemia and anemia, narrowing of the lumen of the arterioles, hyalinosis of their walls. After Solcoseryl therapy the animals revealed severe hyperemia and pulmonary vasodilation, the walls of bronchi are preserved, destruction areas are not visualized, air cavities are rare, mostly small-sized, and pleura over them is not damaged.

Conclusions. The development of bullous emphysema leads to the formation of panacinar emphysema, fibrosis, perivascular and peribronchial infiltration (the infiltrate has the increased number of inflammatory cells), the thinning of pleura. We obtained the data indicating that Solcoseryl reduces the severity of lung tissue destruction, and contributes to reducing the inflammatory process.

Keyword: bullous emphysema, spontaneous pneumothorax, neocollagenogenesis, Solcoseryl.

Ivanov Sergey V. – DM, Professor, Head of Surgical Diseases No 1 Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7540-5748. E-mail: IvanovSV@kursksmu.net

Lazarenko Viktor A. – DM, Professor, Rector, Head of Surgical Diseases Department of FPE, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2069-7701. E-mail: azaroks@mail.ru

Yudina Svetlana M. – DM, Professor, Head of Clinical Immunology, Allergy and Phthisiopulmonology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5074-9595. E-mail: ksmu-immunology@mail.ru

Ivanova Inna A. – PhD in Medicine, Associate Professor, Associate Professor of Clinical Immunology, Allergy and Phthisiopulmonology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-7331-6255. E-mail: ia.ivanova@mail.ru

Ivanov Ilya S. – DM, Associate Professor, Professor of Surgical Diseases No 1 Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-4408-961X. E-mail: ivanov.is@mail.ru (correspondence author)

Kletkin Maxim E. – PhD in Medicine, PhD-applicant of Surgical Diseases No 1 Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3886-5272. E-mail: kletkin-max@mail.ru

Goryainova Galina N. – PhD in Medicine, Associate Professor of Pathological Anatomy Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8856-0616. E-mail: lewis77@yandex.ru

Kozieva Viktoriya V. – Clinical Intern of Clinical Immunology, Allergy and Phthisiopulmonology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2234-7959. E-mail: victoriya_vl@mail.ru

Ob'edkov Evgeny G. – PhD in Medicine, Assistant of Surgical Diseases No 1 Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0566-1476. E-mail: evgenij-obedkov@yandex.ru

Lazarenko Ekaterina D. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Medvedeva Marina A. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

Experimental studies on animals were conducted on the basis of compliance with The European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes, and Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes and approved by the Council of Europe in Stras-

bourg. The protocol of coordination with the regional ethical committee № 1 of 10.10.2016.

AUTHORS CONTRIBUTION

Ivanov S.V. – developing the concept and design of the research, editing. Lazarenko V.A. – developing the concept and design of the re-search, editing. Yudina S.M. – developing the concept and design of the research, editing. Ivanova I.A. – developing the concept and de-sign of the research, text preparation. Ivanov I.S. – collection of material, data analysis, text preparation. Kletkin M.E. – developing the concept of the research, text preparation, collection of material, analysis of the obtained data. Goryainova G.N. –text preparation, data analysis, editing. Kozieva V.V. – text prepara-tion, collection of material, data analysis. Ob'edkov E.G. – collection of material, data analysis. Lazarenko E.D. – collection of material, data analysis. Medvedeva M.A. – collection of material, data analysis.

Received 11.03.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Ivanov S.V., Lazarenko V.A., Yudina S.M., Ivanova I.A., Ivanov I.S., Kletkin M.E., Goryainova G.N., Kozieva V.V., Ob'edkov E.G., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A. Cytomorphological changes in lungs when modelling bullous emphysema depending on the stimulation of neocollagenogenesis in experiment. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):17-26. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/02.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕФИЦИТА МЫШЕЧНОЙ СИЛЫ И ВЛИЯЮЩИХ НА НИХ ФАКТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОМПРЕССИОННЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ТЕЛ ПОЗВОНКОВ НА ФОНЕ СИСТЕМНОГО ОСТЕОПОРОЗА

© Марченкова Л.А.¹, Макарова Е.В.¹, Еремушкин М.А.¹, Шакурова Л.Р.¹, Стяжкина Е.М.¹,
Чесникова Е.И.¹, Разваляева Д.В.¹, Котенко Н.В.¹, Новиков А.В.², Щедрина М.А.²

¹ **Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии (НМИЦ РК)**

Россия, 121099, г. Москва, ул. Новый Арбат, д. 32

² **Приволжский исследовательский медицинский университет (ПИМУ)**

Россия, 603155, г. Н. Новгород, Верхне-Волжская набережная, д. 18

Цель: изучить степень снижения силы мышц спины при переломах позвонков (ПП) на фоне остеопороза (ОП), выделить ассоциированные с этим факторы и диагностические инструменты для оценки данных нарушений.

Материалы и методы. Исследуемую группу составили 60 человек (56 женщин, 4 мужчин) в возрасте 65,43±7,12 года с остеопоротическими ПП. В группу сравнения вошли 30 человек (28 женщин, 2 мужчины) в возрасте 61,97±5,22 года с неосложненным ОП. Определение минеральной плотности кости (МКП) и состава тела выполнялось методом двухэнергетической абсорбциометрии, кондиционные способности оценивались с помощью функциональных тестов, сила мышц спины изучалась методом тензидинамометрии.

Результаты. У пациентов с остеопоротическими ПП в отличии от группы сравнения выявлен дефицит силы мышц сгибателей спины (СС) и разгибателей спины (РС) ($p < 0,001$), при адекватной силе левых боковых сгибателей (ЛБС) и правых боковых сгибателей (ПБС). Выявлена обратная связь силы мышц от количества ПП ($p < 0,001$), прямая связь с МКП. Сила РС зависела от минеральной массы скелета ($p = 0,03$), сила СС – от массы мягких тканей ($p = 0,02$), тощей массы ($p = 0,01$) и минеральной массы скелета ($p = 0,003$), сила ЛБС – от массы жировой ткани ($p = 0,03$) и мягкой ткани ($p = 0,03$).

Заключение. ПП на фоне ОП ассоциируется со значимым снижением силы мышц, особенно в РС и СС, где формируется нефизиологическое распределение мышечной силы. У пациентов с ПП на фоне ОП мышечная масса сопоставима с лицами без переломов, но характерны низкие значения саркопенического индекса, массы и процентного содержания жировой ткани. Сила мышц спины у пациентов с ОП отрицательно зависит от количества ПП и положительно – от жировой массы, тощей массы и МКП.

Ключевые слова: остеопороз, саркопения, переломы позвонков, мышечная сила, состав тела.

Марченкова Лариса Александровна – канд. мед. наук, зав. отделением реабилитации пациентов с соматическими заболеваниями, зав. отделом соматической реабилитации, активного долголетия и репродуктивного здоровья, вед. науч. сотрудник, НМИЦ РК, г. Москва. ORCID iD: 0000-0003-1886-124X. E-mail: lr-march@rambler.ru

Макарова Екатерина Владимировна – науч. сотрудник отдела соматической реабилитации, активного долголетия и репродуктивного здоровья, НМИЦ РК, г. Москва. ORCID iD: 0000-0003-3767-8475. E-mail: rue-royal@inbox.ru (автор, ответственный за переписку)

Еремушкин Михаил Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, зав. отделением ЛФК и клинической биомеханики, зав. отделом ортопедии, биомеханики, кинезитерапии и мануальной терапии, гл. науч. сотрудник, НМИЦ РК, г. Москва. E-mail: medmassage@mail.ru

Шакурова Лилия Рафилевна – мл. науч. сотрудник отдела соматической реабилитации, активного долголетия и репродуктивного здоровья, врач-эндокринолог отделения реабилитации пациентов с соматическими заболеваниями, НМИЦ РК, г. Москва. E-mail: lilya.shakurova@gmail.com

Стяжкина Елена Михайловна – канд. мед. наук, доцент, врач ЛФК отделения ЛФК и клинической биомеханики, вед. науч. сотрудник отдела ортопедии, биомеханики, кинезитерапии и мануальной терапии, НМИЦ РК, г. Москва. E-mail: styazelena@yandex.ru

Чесникова Екатерина Ивановна – врач ЛФК отделения ЛФК и клинической биомеханики, науч. сотрудник отдела ортопедии, биомеханики, кинезитерапии и мануальной терапии, НМИЦ РК, г. Москва. E-mail: ekaterina-bokova@mail.ru

Разваляева Дарья Владимировна – врач ЛФК отделения ЛФК и клинической биомеханики, НМИЦ РК, г. Москва.

Котенко Наталья Владимировна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник отдела соматической реабилитации, активного долголетия и репродуктивного здоровья, врач-гинеколог, НМИЦ РК, г. Москва. E-mail: doktorkot@gmail.com

Новиков Александр Вульфович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник Университетской клиники, ПИМУ, г. Н. Новгород. ORCID iD: 0000-0001-8099-3791. E-mail: novik2.55@mail.ru

Щедрина Марина Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник отделения реконструктивно-пластической хирургии и восстановительного лечения Университетской клиники, ПИМУ, г. Н. Новгород.

Неуклонный рост средней продолжительности жизни людей в России и во всем мире влечет за собой рост частоты заболеваний, ассоциированных с пожилым возрастом, одним из ко-

торых является остеопороз – системное заболевание скелета, для которого характерно снижение прочности кости и повышение риска переломов [18]. Согласно данным Международного

фонда остеопороза, каждые три секунды в мире происходит один перелом, ассоциированный с остеопорозом. В возрасте старше 50 лет каждая 3-я женщина и 5-й мужчина переносят хотя бы один остеопоротический перелом [3].

Патологические компрессионные переломы позвонков (ПП) – одно из наиболее частых и тяжелых осложнений остеопороза. В России ежегодно регистрируется 2 млн компрессионных ПП у женщин и 1 млн у мужчин [7]. Согласно эпидемиологическим исследованиям, проведенным в разных регионах страны, остеопоротические ПП встречаются у 7,2-12% мужчин и 7-16% у женщин [7,3].

ПП у пациентов с ОП возникают в нижнегрудном и поясничном отделах позвоночника и в большинстве случаев сопровождаются выраженным болевым синдромом в спине, нарушением статики позвоночника, формированием патологического грудного гиперкифоза, ограничением подвижности и двигательной активности [21]. В связи с необходимостью формирования эффективных реабилитационных программ для таких пациентов, представляет интерес изучение особенностей нарушения функции мышц спины у пациентов с остеопорозом, перенесших ПП. Исследовательская гипотеза предполагает, что такая травма должна приводить к слабости мышц, мышечной дисфункции и кондиционным (базовым двигательным) нарушениям.

В этой связи также важным аспектом является выявление у этих больных клинических проявлений саркопении – возраст-ассоциированной потери массы и силы скелетной мускулатуры, которая является важным фактором риска новых переломов, а кроме того, может замедлять и снижать эффективность реабилитационных мероприятий [2].

Целью данного исследования было изучение специфических особенностей и степени снижения силы мышц спины при ПП на фоне системного остеопороза, определение факторов, в том числе клинических проявлений саркопении, влияющих на эти изменения, и выделение наиболее информативных диагностических инструментов для оценки нарушений кондиционных способностей у таких пациентов.

Статья будет полезна специалистам, работающим в сфере реабилитации и восстановительного лечения, травматологам, эндокринологам, врачам лечебной физкультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проводилось одномоментное исследование поперечного среза в двух группах. Исследуемую группу формировали из мужчин и женщин в

возрасте от 40 до 80 лет, с системным остеопорозом, осложненным как минимум одним патологическим компрессионным ПП по критериям Н. Genant [12, 13] давностью не более 12 месяцев, подтвержденным рентгенологически, и с показателями минеральной плотности кости (МПК) по Т-критерию в поясничном отделе позвоночника или проксимальном отделе бедренной кости $\leq -2,0$ по данным двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии [18].

Критериями исключения были: отказ подписать информированное согласие на участие в исследовании, кахексия любого происхождения, заболевания или лекарственная терапия, отрицательно влияющие на двигательные способности и мышечную силу.

Группу сравнения формировали из пациентов без патологических переломов в анамнезе, сопоставимых по полу, возрасту, индексу массы тела (ИМТ) и показателям МПК (Т-критерий в исследуемых зонах скелета $\leq -2,0$), в соотношении 1:2 по отношению к исследуемой группе.

Комплекс исследований в обеих группах включал:

1. Общеклинический осмотр и сбор анамнеза;

2. Расчет абсолютного 10-летнего риска переломов при помощи международного инструмента-расчета FRAX® [3];

3. Костную денситометрию на двухэнергетическом рентгеновском абсорбциометре Lunar Prodigy (производство General Electric) для определения уровня МПК в поясничном отделе позвоночника (L1-L4) и проксимальном отделе бедренной кости и оценки композитного состава тела в режиме «Все тело» (Body total) с расчетом массы жировой ткани (г), тощей массы (г), минеральной массы скелета (г) и скелетно-мышечного индекса Баумгартена – индекса саркопении ($\text{кг}/\text{м}^2$).

4. Тензодинамометрию на аппарате Back-Check (производство Dr. Wolff, Германия) с оценкой силы мышц сгибателей спины (СС), разгибателей спины (РС), левых боковых сгибателей (ЛБС) и правых боковых сгибателей (ПБС). Аппарат регистрирует силу, с которой работает (оказывает сопротивление) определенная исследуемая группа мышц. Кроме абсолютных значений силы мышц в кг, аппарат определяет степень дефицита мышечной силы в процентах, которая рассчитывается как разница между фактическими показателями силы и показателями, рекомендованными для определенного возраста, пола, роста и веса;

5. Функциональные тесты на оценку кондиционных способностей: тест «Встань и иди», десятиметровый тест ходьбы, тест на выносливость мышц спины и живота к статической

нагрузке, тест на выносливость мышц спины и живота к динамической нагрузке [2].

Статистический анализ проводился в программе Microsoft Statistica 10.0 с использованием параметрических и непараметрических методов. Значения показателей приведены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm m$) при правильном распределении или в виде медианы и 25-го и 75-го квартилей (Me [25%; 75%]) при неправильном. Для попарных сравнений показателей в группах использовали t-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Для выявления взаимосвязи двух показателей для конечных величин использовали метод корреляции Спирмена или гамма-корреляции. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование включены 90 пациентов. Исследуемую группу составили 60 человек (56 женщин, 4 мужчины), из которых 38,3% пациентов имели один патологический ПП, 16,6% – 2 ПП, у 20% – 3 ПП, а в 25,1% случаев рентгенологически были подтверждены переломы в грудном и поясничном отделах позвоночника в количестве от 4 до 9. В группу сравнения включили 30 человек (28 женщин, 2 мужчин). Группы не различались по возрастным характеристикам, весу, росту, ИМТ, а также показателям МПК поясничного сегмента позвоночника (табл. 1). Однако пациенты в исследуемой группе имели более высокий абсолютный риск развития новых переломов по FRAX® в сравнении

Таблица 1
Table 1

Базовые характеристики исследуемой группы и группы сравнения

Baseline data on the study group and control group

Показатели Indices	Исследуемая группа Study group	Группа сравнения Control group	P
Мужчины / женщины Male / female	4/56	2/28	
Возраст (годы) Age (years)	65.4±7.1	61.9±5.2	0.09
Вес (кг) Weight (kg)	74.8±14.2	76.2±11.0	0.10
Рост (см) Height (cm)	161.3±16.3	162.9±14.8	0.12
ИМТ (кг/м ²) BMI (kg/m ²)	26.7±4.3	28.7±5.94	0.09
Длительность остеопороза (лет) Osteoporosis durarion (age)	3.2±8.1	2.9±7.03	0.2
Длительность менопаузы Postmenopause duration	15.8±8.0	14.1±5.7	0.10
Возраст менопаузы Age of menopause	49.5±4.4	49.8±4.4	0.07
Риск остеопоротических переломов по FRAX (%) Fracture risk according to FRAX (%)	23.0 [17.5;28.0]	13.0 [9.8;16.0]	0.000
Риск перелома бедра по FRAX (%) Hip fracture risk according to FRAX (%)	6.9 [3.6;9.3]	2.1[1.5;3.9]	0.000
BMD L1-L4 (г/см) BMD L1-L4 (g/cm)	0.859±0.13	0.965±0.12	0.08
BMD левая шейка бедра (г/см) BMD left hip (g/cm)	0.73±0.09	0.88±0.11	0.001

Показатели состава тела по данным денситометрического исследования по программе «Все тело» в исследуемой группе и группе сравнения

Body composition data according to densitometry "Total body" in the study group and control group

Показатели Indices	Исследуемая группа Study group	Группа сравнения Control group	P
Индекс Баумгартена (кг/м ²) Baumgarten index (kg/m ²)	6.52 ± 1.2	7.5 ± 2.0	0.02
Масса тела (г) Body mass (g)	75129.6 ± 12178.4	77726.4 ± 16138.6	0.09
Масса мягких тканей (г) Soft tissues mass (g)	73197.6 ± 11826.8	75376.7 ± 11745.9	0.08
Процент жировой ткани (%) Body fat (%)	40.67 ± 7.2	47.05 ± 9.1	0.01
Масса жировой ткани (г) Body fat mass (g)	29717.0 ± 8367.4	35464.1 ± 9127.4	0.01
Тощая масса (г) Lean mass (g)	43479.0 ± 5969.11	39949.5 ± 6282.0	0.07
Минеральная масса скелета (г) Mineral bone mass (g)	1931.9 ± 351.56	2349.6 ± 432.5	0.001

с контрольной группой, как для всех остеопоротических переломов ($p=0,000$), так и для перелома бедренной кости ($p=0,000$), а также более низкую МПК в шейке левого бедра ($p=0,001$).

По данным анализа состава тела, пациенты исследуемой группы с патологическими ПП, характеризовались более низким скелетно-мышечным индексом Баумгартена ($p=0,02$), меньшей массой и процентом содержания жировой ткани ($p=0,01$ и $p=0,001$ соответственно), а также меньшей минеральной массой скелета ($p=0,001$) при сопоставимой тощей массе ($p=0,07$) (табл. 2).

У пациентов исследуемой группы с ПП выявлен значительный дефицит силы СС и РС, при относительно адекватной силе боковых мышц сгибателей туловища (ЛБС и ПБС). В группе сравнения сила всех исследуемых мышц практически соответствовала рекомендуемым значениям – различия между рекомендованными и фактическими показателями не были статистически значимыми (табл. 3, рис. 1).

Абсолютные показатели мышечной силы (в кг) для всех групп мышц были значимо ниже в исследуемой группе, чем в группе пациентов без остеопоротических ПП (табл. 3, рис. 1).

По данным тензодинамометрии обнаружены различия в силовом соотношении мышц РС и СС: у лиц с компрессионными ПП сила РС (15,64±9,8 кг) соотносилась с силой СС

(14,61±8,98 кг) приблизительно, как 1:1, тогда как у лиц без ПП отношение силы РС (27,73±9,9 кг) к СС (21,28±8,38 кг) составило примерно 3:2.

Как видно из табл. 4, не было выявлено статистически значимых различий между средними результатами функциональных тестов на оценку кондиционных двигательных способностей, полученных у пациентов в двух группах. Обращает на себя внимание, что показатели всех четырех тестов на выносливость к статической и динамической нагрузке у пациентов с ОП в обеих группах были одинаково критически низки, в сравнении с рекомендуемыми нормами выполнения данных тестов для лиц сопоставимого возраста [7].

Корреляционный анализ в исследуемой группе ($n=60$) выявил статистически значимую обратную зависимость силы всех исследуемых групп мышц спины от количества ПП ($p<0,001$), а также прямую связь со значениями МПК в поясничном отделе позвоночника (табл. 5). У пациентов с ПП на фоне ОП сила исследуемых мышц также положительно коррелировала с показателями состава тела. В частности, сила РС зависела от минеральной массы скелета ($p=0,03$), сила СС – от массы мягких тканей ($p=0,02$), тощей массы ($p=0,01$) и минеральной массы скелета ($p=0,003$), тогда как сила ЛБС – от массы жировой ткани ($p=0,03$) и мягких тканей ($p=0,03$) (табл. 5).

Таблица 3

Table 3

Показатели силы мышц туловища и дефицита мышечной силы в сравнении с рекомендованными значениями у пациентов с ОП

Trunk muscles strength and muscle strength deficiency in comparison with recommended values in patients with osteoporosis

Показатели Indices	Исследуемая группа Study group	Группа сравнения Control group	P
Разгибатели спины (кг) Trunk extensors (kg)	15.64±9.8	27.73±9.9	0.000
РС (% дефицита силы) TE (strength deficiency %)	-40.93±39.19	3.01±30.29	0.000
Сгибатели спины (кг) Trunk flexors (kg)	14.61±8.98	21.28±8.38	0.000
СС (% дефицита силы) TF (strength deficiency %)	-18.12±46.6	9.5±29.9	0.006
Наклоны туловища влево (кг) Left lateral trunk flexors (kg)	13.10±7.2	24.06±8.9	0.005
ЛБС (% дефицита силы) LLTF (strength deficiency %)	-8.2±23.55	-8.5±10.84	0.4
Наклоны туловища вправо (кг) Right lateral trunk flexors (kg)	13.44±7.43	24.26±7.65	0.000
ПБС (% дефицита силы) RLTF (strength deficiency %)	-8.42±20.81	-6.6±9.0	0.7

Примечание: РС – разгибатели спины, СС – сгибатели спины, ЛБС – левые боковые сгибатели, ПБС – правые боковые сгибатели.

Note: TE – trunk extensors, TE – trunk flexors, LLTF – left lateral trunk flexors, RLTF – right lateral trunk flexors.

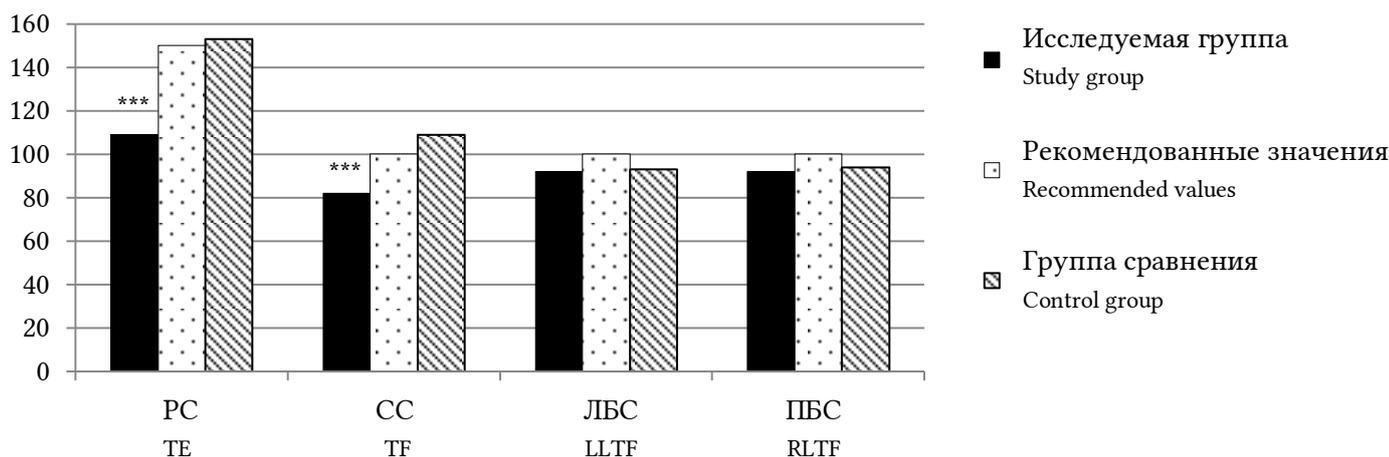


Рис. 1. Показатели мышечной силы (кг) в сравнении с рекомендуемыми значениями.

Примечание: РС – разгибатели спины, СС – сгибатели спины, ЛБС – левые боковые сгибатели, ПБС – правые боковые сгибатели; *** – различия статистически значимы между исследуемой группой и группой сравнения при значениях $p < 0,001$.

Fig. 1. Muscle strength data (kg) in comparison with recommended values.

Note: TE – trunk extensors, TE – trunk flexors, LLTF – left lateral trunk flexors, RLTF – right lateral trunk flexors; *** – difference was statistically significant between study group and control group, $p < 0,001$.

Результаты оценки кондиционных способностей в исследуемой группе и группе сравнения
Results of functional tests on conditional abilities in study group and control group

Показатели Indices	Нормы для 40-60 лет Reference values (for age 40-60)	Исследуемая группа Study group	Группа сравнения Control group	P
Тест «Встань и иди» (сек) “Up and go” test (sec)	до 10 up to	10.0 [7.7; 13.0]	9.0 [8; 10]	0.3
Выносливость к статической нагрузке мышц спины (сек) Static back muscles endurance (sec)	60-90	0 [0; 7]	0 [0; 30]	0.29
Выносливость к статической нагрузке мышц живота (сек) Static abdomen muscles endurance (sec)	40-60	0 [0; 11]	0 [0; 0]	0.18
Выносливость к динамической нагрузке мышц спины (раз) Dynamic back muscles endurance (times)	30	0 [0; 5]	0 [0; 5]	0.99
Выносливость к динамической нагрузке мышц живота (раз) Dynamic abdomen muscles endurance (times)	30	0 [0; 5]	0 [0; 6]	0.48
Десятиметровый тест ходьбы (м/с) 10-meters walking test (m/s)	1.3-1.43	1.6 [1.2; 2.0]	1.4 [1.3; 1.7]	0.37

На показатели всех функциональных тестов по оценке кондиционных способностей статически значимо влиял только возраст, за исключением теста «Встань и иди» (табл. 5). Однако не выявлено значимых связей результатов функциональных тестов с количеством переломов позвоночника, ИМТ, МПК, показателями состава тела или длительностью постменопаузы у женщин. Кроме того, обнаружена парадоксальная обратная зависимость между показателями теста на выносливость к статической физической нагрузке мышц спины и тощей массой (табл. 5).

Известно, что с возрастом у человека наблюдается постепенное ухудшение базовых двигательных способностей вследствие дегенеративных изменений в костно-мышечной и нервной системах [17, 20]. Это проявляется значимым снижением выносливости, гибкости, силы и объема мышц [5]. Группой бельгийских ученых (Beaudart C. et al., 2016) в ходе исследования «SarcoPhAge» получены убедительные данные о связи развития инволютивных изменений в мышечной ткани (саркопении) с возрастом. При этом наличие низкой МПК и остеопороза напрямую значимо ассоциировалось с меньшим

объемом скелетной мускулатуры и мышечной слабостью [10].

Известно, что саркопения чаще встречается у пожилых пациентов после какого-либо перенесенного перелома [18]. В целом данные исследований свидетельствуют о более низкой мышечной массе, мышечной силе, пониженной выносливости и гибкости у пациентов с остеопоротическими переломами в анамнезе, в сравнении с лицами того же возраста без остеопороза [11]. Большой вклад в развитие мышечной дисфункции у таких лиц вносит иммобилизация или недостаточная двигательная активность, поскольку в неработающих мышцах быстро запускаются инволютивные процессы [7].

Наше исследование было посвящено изучению проявлений саркопении и особенностей изменения мышечной силы фокусно у пациентов с остеопоротическими ПП. Полученные результаты показали, что мышечная масса у таких больных в целом сопоставима с лицами, страдающими неосложненным остеопорозом, однако выявлены меньшие значения массы и процентного содержания жировой ткани, а также саркопенического индекса, то есть более высокий риск развития саркопении.

Таблица 5
Table 5

Корреляционные связи показателей мышечной силы по данным тензодинамометрии и функциональных тестов с возрастными, клиническими параметрами и составом тела

Correlations between muscle strength according to tension dynamometry and functional tests with age, clinical data and body composition

Параметры Indices	1	2	3	4	5	6	7	8
Тензодинамометрия (Back-Check Dr Wolff) Tension dynamometry (Back-Check Dr Wolff)								
РС (кг) TE (kg)	0.01	-0.34 ***	0.02	0.39**	-0.29	0.12	0.17	0.31*
СС (кг) TF (kg)	0.08	-0.27 ***	0.1	0.48 **	-0.22	0.34*	0.36**	0.43**
ЛБС (кг) LLTF (kg)	0.02	-0.35 ***	0.13	0.46 ***	0.32*	0.32*	0.09	0.22
ПБС (кг) RLTF (kg)	-0.06	-0.32 ***	-0.0	0.35*	-0.15	0.1	0.11	0.25
Функциональные тесты Functional tests								
Тест «Встань и иди» (сек) "Up and go" test (sec)	0.23	-0.07	0.001	-0.19	-0.013	0.09	0.16	-0.009
10-метровый тест ходьбы (м/с) 10-meters walking test (m/s)	0.27*	0.07	0.014	-0.2	-0.02	-0.15	0.24	-0.12
Выносливость к статической нагрузке Static endurance								
Мышцы спины (сек) Back muscles (sec)	-0.3 **	0.02	-0.15	-0.01	-0.15	-0.25	-0.31*	0.23
Мышцы живота (сек) Abdomen muscles (sec)	-0.2*	0.12	-0.13	-0.14	-0.15	-0.12	-0.03	0.005
Выносливость к динамической нагрузке Dynamic endurance								
Мышцы спины (раз) Back muscles (times)	-0.2*	0.05	-0.08	-0.000	-0.08	-0.16	-0.25	0.21
Мышцы живота (раз) Abdomen muscles (times)	-0.2 **	-0.01	-0.13	-0.05	-0.03	-0.06	-0.01	0.09

Примечания: приведены коэффициенты корреляции Спирмена r или гамма-корреляции g . Столбцы: 1 – возраст (r), 2 – количество ПП (g), 3 – ИМТ (g), 4 – МПК L1-L4 (r), 5 – масса жировой ткани (r), 6 – масса мягких тканей (r), 7 – тощая масса (r), 8 – минеральная масса скелета (r). Различия статистически значимы между исследуемой группой и группой сравнения при значениях $p < 0.05$, $** < 0.01$, $*** < 0.001$. РС – разгибатели спины, СС – сгибатели спины, ЛБС – левые боковые сгибатели, ПБС – правые боковые сгибатели.

Notes: Spearman correlations (r) and gamma-correlations (g) were used. Columns: 1 – age (r), 2 – number of vertebral fractures (g), 3 – BMI (g), 4 – bone mineral density L1-L4 (r), 5 – fat mass (r), 6 – soft tissues mass (r), 7 – lean mass (r), 8 – bone mineral mass (r). The difference was statistically significant between study group and control group, p values $* < 0.05$, $** < 0.01$, $*** < 0.001$. TE – trunk extensors, TF – trunk flexors, LLTF – left lateral trunk flexors, RLTF – right lateral trunk flexors.

Корреляционный анализ выявил, что показатели мышечной силы по данным тензодинамометрии обратно зависят от массы жировой и мышечной ткани. Доказано, что дефицит массы тела (в частности, объема жировой ткани) и саркопения, проявляющаяся уменьшением мышечной массы, являются факторами риска переломов в целом. Полученные нами данные позволяют заключить, что эти показатели можно считать факторами риска развития и патологических ПП у пациентов с остеопорозом.

Несмотря на практически равные значения мышечной массы, у пациентов с патологическими ПП уменьшается сила всех мышц туловища. Причем выявлена значимая обратная зависимость силы всех исследуемых мышц спины от количества перенесенных ПП. Самый выраженный дефицит силы отмечается в мышцах глубокой стабилизационной системы позвоночника, поддерживающих правильную осанку – РС и СС. Адекватное соотношение силы РС и СС предполагает преобладание функции разгибания над сгибанием. В норме соотношение РС:СС = 3:2 [1, 4], которое как раз и выявлено в группе сравнения у пациентов с ОП без патологических переломов. Для лиц с остеопоротическими ПП характерно нефизиологическое распределение силы мышц спины – РС:СС = 1:1, то есть имеет место не только количественный, но и качественный дефицит силы мышц спины.

Таким образом, развитие ПП на фоне системного остеопороза ассоциируется со значительным снижением силы всех мышц туловища, при этом наблюдается патологическая слабость мышц-экстензоров и гипертонус мышц-флексоров, что, очевидно, является причиной формирования патологического грудного гиперкифоза, ухудшения осанки и ограничения физического функционирования.

В нашем исследовании выявлена значимая прямая взаимосвязь силы всех мышц спины и МПК позвоночника, а также мышц сгибателей и разгибателей спины – с минеральной массой скелета. С одной стороны, можно сделать вывод, что величина потери МПК (то есть степень тяжести остеопороза) – еще один фактор, влияющий на степень потери мышечной силы у мужчин и женщин с ПП. С другой стороны, наоборот, в исследовании группы женщин 41-75 лет показана зависимость уровня МПК от исходного объема мышечной ткани, и продемонстрирован прирост костной массы на фоне увеличения объема и силы мышц [8]. Это подтверждается другими работами, где на примере молодых женщин отражено влияние мышечной силы на показатели МПК [9].

Известно, что низкий ИМТ (за счет низкой массы мышечной ткани) является предиктором

развития остеопороза и переломов [14]. Однако, как показали наши результаты, величина ИМТ не влияет на силу и функцию мышц спины и результаты функциональных тестов у пациентов с остеопоротическими ПП.

В научных работах по оценке мышечной силы у пациентов с остеопорозом и пожилых лиц в целом часто используют функциональные тесты – шестиметровый и десятиметровый тесты ходьбы, тест «батарейки», тест «Встань и иди» и др. [15, 22]. При планировании дизайна исследования мы расширили традиционный спектр функциональных тестов на оценку кондиционных способностей, включив тесты на оценку мышц туловища к статической и динамической физической нагрузке, поскольку сила именно этих мышц параллельно оценивалась методом тензодинамометрии. Тем не менее не было выявлено каких-либо значимых отличий результатов функциональных тестов у пациентов с ПП по сравнению с лицами с остеопорозом без переломов. Показатели используемых тестов обратно зависели только от возраста пациента, но не были ассоциированы с числом ПП или уровнем МПК. При этом обращают на себя внимание крайне низкие по сравнению с нормативными (близкие к нулевым) показатели всех тестов на выносливость в обеих группах. Это может свидетельствовать либо об исходно завышенных нормах выполнения данных тестов [2], либо о низкой тренированности лиц среднего и старшего возраста в целом вследствие недостаточной приверженности культуре физических тренировок в повседневной жизни.

Таким образом, развитие патологических ПП на фоне ОП, как и заболевание само по себе, не влияют существенно на показатели функциональных тестов и поэтому последние, очевидно, мало информативны в оценке специфических изменений кондиционных способностей на фоне патологических ПП. Функциональные тесты обладают меньшей чувствительностью и валидностью (способностью выявлять именно тот признак, для которого они предназначены) по сравнению с тензодинамометрией мышц туловища по причине низкой точности измерений и присутствия субъективного фактора (оценка поводится врачом-исследователем). Важно, что показатели тензодинамометрии не зависят от возраста, а коррелируют только с выраженностью клинических проявлений остеопороза (уровнем МПК, количеством ПП) и саркопении (мышечная масса). Тензодинамометрия, очевидно, более предпочтительна в оценке мышечной силы и в сравнении с более распространенным и простым методом оценки функции мышц с помощью ручного динамометра.

метра [16], который позволяет судить лишь о состоянии мышц верхних конечностей.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Развитие ПП на фоне системного остеопороза ассоциируется со значимым снижением силы всех мышц туловища. Самый выраженный дефицит силы отмечается в мышцах глубокой стабилизационной системы позвоночника РС и СС, где на фоне ПП формируется нефизиологическое распределение мышечной силы, равное 1:1, вместо 3:2, наблюдающееся в норме и у пациентов с неосложненным ОП.

2. У пациентов с ПП на фоне системного ОП мышечная масса сопоставима с лицами, страдающими неосложненным ОП, однако отмечены меньшие значения саркопенического индекса, массы и процентного содержания жировой ткани.

3. Сила мышц спины у пациентов с остеопорозом обратно зависит от количества ПП, прямо связана с жировой массой и объемом скелетной мускулатуры. Имеется прямая ассоциация МПК поясничного отдела позвоночника с силой мышц спины.

4. Не выявлено значимых отличий в результатах функциональных тестов у пациентов с ПП по сравнению с лицами с остеопорозом без переломов. Таким образом, в клинической практике, оценка силы мышц туловища с помощью тензодинамометрии более информативна, нежели стандартные функциональные тесты у лиц с ПП на фоне ОП.

5. Полученные данные стоит учитывать при разработке комплексов групповых и индивидуальных занятий лечебной физкультурой, подборе упражнений для занятий на тренажерах. Делать упор на тренировку мышечного корсета спины, особенно мышц разгибателей туловища.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Марченкова Л.А. – разработка протокола исследования, анализ данных, написание текста статьи, формулирование выводов. Макарова Е.В. – реализация протокола клинического исследования, набор исследуемого материала, статистическая обработка, написание текста статьи. Еремушкин М.А., Новиков А.В. – научные консультанты. Шакурова Л.Р., Котенко Н.В., Чесникова Е.И., Стяжкина Е.М., Развальяева Д.В., Шедрина М.А. – реализация протокола клинического исследования, сбор данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа была выполнена без привлечения дополнительных финансовых средств.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол данного исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ РК» № 3 от 25.07.2016 года. Все участники исследования подписывали информированное согласие.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Верхошанский Ю.В. *Основы специальной силовой подготовки в спорте*. Изд. 3-е. Москва: Советский спорт; 2013. 216 с. [Verkhoshanskiy Yu.V. *Osnovy spetsial'noy silovoy podgotovki v sporte*. 3rd edition. Moscow: Sovetskiy sport; 2013. 216 p. (in Russ.)].
2. Еремушкин М.А. *Двигательная активность и здоровье. От лечебной гимнастики до паркура*. Москва: Спорт; 2016. 240 с. [Eremushkin M.A. *Dvigatel'naya aktivnost' i zdorov'ye. Ot lechebnoy gimnastiki do parkura*. Moscow: Sport; 2016. 240 p.].
3. Лесняк О.М., Баранова И.А., Белова К.Ю., Gladkova E.H., Евстигнеева Л.П., Ершова О.Б., Каронова Т.Л., Кочиш А.Ю. и др. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2018; 24(1):155-168 [Lesnyak O.M., Baranova I.A., Belova K.Yu., Gladkova E.N., Evstigneeva L.P., Ershova O.B., Karonova T.L., Kochish A.Yu. et al. Osteoporosis in Russian Federation: epidemiology, socio-medical and economical aspects (review). *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2018; 24(1):155-168 (in Russ.)].
4. Михайлофф П.Р., Громов В.А. Соотношение показателей развития силы мышц сгибателей и разгибателей туловища как фактор предотвращения боли в поясничном отделе позвоночника. *Экстремальная деятельность человека*. 2017; 43(2): 21-24 [Mikhayloff P.R., Gromov V.A. Relation of indicators between development of muscle power of flexor and extensor trunks, as a factor of pain prevention in the lumbar spine department. *Ekstremal'naya deyatelnost' cheloveka*. 2017; 43(2):21-24 (in Russ.)].
5. Поворознюк В.В., Дзерович Н.И. Саркопения и возраст: обзор литературы и результаты собственных исследований. *Боль. Суставы. Позвоночник*. 2012;7(3):7-13 [Povoroznyuk V.V., Dzerovich N.I. Sarcopenia and age: literature review and results of own research. *Bol'. Sustavy. Pozvonochnik*. 2012; 7(3):7-13 (in Russ.)].
6. Российская ассоциация по остеопорозу. *Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение*. Под ред. О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленской. Изд. 2-е. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2009. 272 с. [Russian Association for osteoporosis. *Osteoporoz Diagnostika, profilaktika i lecheniye*. O.M. Lesnyak, L.I. Benevolenskaya, editors. 2nd edition. Moskva: GEOTAR-Media; 2009. 272 p. (in Russ.)].

7. Хвостова С.А. Масса мышц, соединительной и жировой ткани в конечности после переломов. *Современные проблемы науки и образования*. 2011; 2:11 [Chvostova S.A. Mass of muscles, connective and adipose tissue in the limbs after fracture. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2011; 2: 11 (in Russ.)] URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4580>.
8. Armamento-Villareal R., Aguirre L., Napoli N., Shah K., Hilton T., Sinacore D.R., Qualls C., Villareal D.T. Changes in thigh muscle volume predict bone mineral density response to lifestyle therapy in frail, obese older adults. *Osteoporos Int*. 2014; 25(2):551-558. DOI: 10.1007/s00198-013-2450-2.
9. Bayramoğlu M, Sözyay S, Karataş M, Kiliç S. Relationships between muscle strength and bone mineral density of three body regions in sedentary postmenopausal women. *Rheumatol Int*. 2005; 25(7):513-517. DOI: 10.1007/s00296-004-0475-8.
10. Beaudart C., McCloskey E., Bruyère O., Cesari M., Rolland Y., Rizzoli R., Araujo de Carvalho I., Amuthavalli Thiyagarajan J. et al. Sarcopenia in daily practice: assessment and management. *BMC Geriatr*. 2016; 16(1):170. DOI: 10.1186/s12877-016-0349-4.
11. Cederholm T., Cruz-Jentoft A.J., Maggi S. Sarcopenia and fragility fractures. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2013; 49:111-117.
12. Genant H.K., Jergas M., Palermo L., Nevitt M., Valentin R.S., Black D., Cummings S.R. Comparison of semiquantitative visual and quantitative morphometric assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Bone Miner Res*. 1996; 11(7):984-996. DOI: 0.1002/jbmr.5650110716.
13. Genant H.K., Wu C.Y., van Kuijk C., Nevitt M.C. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res*. 1999; 8(9):1137-1148. DOI: 10.1002/jbmr.5650080915.
14. Levinger I., Phu S., Duque, G. Sarcopenia and Osteoporotic Fractures. *Clinic Rev Bone Miner Metab*. 2016; 14(1):38-44. DOI: 10.1007/s12018-016-9204-6.
15. Lyons J.G., Heeren T., Stuver S.O., Fredman L. Assessing the Agreement Between 3-Meter and 6-Meter Walk Tests in 136 Community-Dwelling Older Adults. *J Aging Health*. 2015; 27(4):594-605. DOI: 10.1177/0898264314556987.
16. McGrath R.P., Kraemer W.J., Vincent B.M., Hall O.T., Peterson M.D. Muscle Strength Is Protective Against Osteoporosis in an Ethnically Diverse Sample of Adults. *J Strength Cond Res*. 2017; 31(9):2586-2589. DOI: 10.1519/JSC.0000000000002080.
17. Peterka R.J., Black F.O. Age-related changes in human posture control: sensory organization tests. *J Vestib Res*. 1990-1991; 1(1):73-854.
18. Rikkinen T., Sirola J., Salovaara K., Tuppurainen M., Jurvelin J.S., Honkanen R., Kröger H. Muscle strength and body composition are clinical indicators of osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2012; 91(2): 131-138. DOI: 10.1007/s00223-012-9618-1.
19. Tarantino U., Iolascon G., Cianferotti L., Masi L., Marcucci G., Giusti F., Marini F., Parri S. et al. Clinical guidelines for the prevention and treatment of osteoporosis: summary statements and recommendations from the Italian Society for Orthopaedics and Traumatology. *J Orthop Traumatol*. 2017; 18(S1):3-36. DOI: 10.1007/s10195-017-0474-7.
20. Volpi E., Nazemi R., Fujita S. Muscle tissue changes with aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004; 7(4):405-410.
21. WHO Scientific Group on the Burden of Musculoskeletal Conditions at the Start of the New Millennium. *The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium*. Geneva: World Health Organ Tech Rep; 2013. 231 p.
22. Zhou Z., Zheng L., Wei D., Ye M., Li X. Muscular strength measurements indicate bone mineral density loss in postmenopausal women. *Clin Interv Aging*. 2013; 8:1451-1459. DOI: 10.2147/CIA.S48447.

Поступила в редакцию 05.02.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Марченкова Л.А., Макарова Е.В., Еремушкин М.А., Шакурова Л.Р., Стяжкина Е.М., Чесникова Е.И., Разваляева Д.В., Котенко Н.В., Новиков А.В., Щедрина М.А. Исследование особенностей дефицита мышечной силы и влияющих на них факторов у пациентов с компрессионными переломами тел позвонков на фоне системного остеопороза. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019; (2):27-38. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/03.

MUSCULAR AND STRENGTH DEFICIENCY IN PATIENTS WITH OSTEOPOROTIC COMPRESSION VERTEBRAL FRACTURES: OSTEOPOROSIS AS A RISK FACTOR FOR SARCOPENIA

© Marchenkova L.A.¹, Makarova E.V.¹, Eryomushkin M.A.¹, Shakurova L.R.¹, Styazhkina E.M.¹, Chesnikova E.I.¹, Razvalyaeva D.V.¹, Kotenko N.V.¹, Novikov A.V.², Shchedrina M.A.²

¹ National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology (NMRC RB)

32, Novyi Arbat, Moscow, 121099, Russian Federation

² Privolzhsky Research Medical University (PRMU)

18, Verkhne-Volzhsкая Embankment, N. Novgorod, 603155, Russian Federation

Objective: to specify degree of back muscles strength deficiency in patients with osteoporosis (OP) and vertebral fractures (VF), to state associated risk factors and most informative diagnostic instruments.

Materials and methods. Study comprised 60 people aged 65.43±7.12 with osteoporotic VF. The comparison group consisted of 30 people aged 61.97±5.22 without VF. The assessment of bone mineral density (BMD) and body composition was performed by dual-energy absorptiometry, the conditioned abilities were estimated by functional tests, and back muscles strength was measured with tension dynamometry.

Results. Patients with VFs, unlike the comparison group, had a significant muscle strength deficiency in trunk flexors (TF) and extensors (TE) with an adequate function of the left lateral flexors (LLF) and right lateral flexors (RLF). Muscle strength negatively correlated with the number of VFs ($p<0.001$) and positively correlated with BMD strength of TE depended on bone mineral mass ($p=0.03$), strength of TF – on soft tissues mass ($p=0.02$), lean mass ($p=0.01$) and bone mineral mass ($p=0.003$), strength of LLF – on fat mass ($p=0.03$) and soft tissues mass ($p=0.03$).

Conclusion. Osteoporotic VF are associated with a significant trunk muscles strength reduction, especially in TF and TE muscles, where non-physiological muscle strength distribution is found. In patients with osteoporotic VF, muscle mass is comparable to the group without VF, but lower values of sarcopenic index, fat mass and percentage are estimated. The strength of back muscles in patients with OP negatively correlates with number of VF, and positively correlates with fat mass, lean mass and BMD.

Keywords: osteoporosis, sarcopenia, vertebral fractures, muscular strength, body composition.

Marchenkova Larisa A. – PhD in Medicine, Head of Rehabilitation Department for Patients with Somatic Diseases, Head of Somatic Rehabilitation, Anti-Aging and Reproductive Health Department, Leading Researcher, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1886-124X. E-mail: lr-march@rambler.ru

Makarova Ekaterina V. – Researcher of Somatic Rehabilitation, Anti-Aging and Reproductive Health Department, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3767-8475. E-mail: rue-royal@inbox.ru (correspondence author)

Eryomushkin Mikhail A. – Doctor in Medicine, Professor, Head of Physical Therapy and Clinical Biomechanics Department, Head of Orthopedics, Biomechanics, Kinesiotherapy and Manual Therapy Department, Chief Researcher, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. E-mail: medmassage@mail.ru

Shakurova Liliya R. – Junior Researcher of Somatic Rehabilitation, Anti-Aging and Reproductive Health Department, Endocrinologist of Rehabilitation Department for Patients with Somatic Diseases, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. E-mail: lilya.shakurova@gmail.com

Styazhkina Elena M. – PhD in Medicine, Associate Professor, Physical Therapy Physician of Physical Therapy and Clinical Biomechanics Department, Leading Researcher of Orthopedics, Biomechanics, Kinesiotherapy and Manual Therapy Department, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. E-mail: styazelena@yandex.ru

Chesnikova Ekaterina I. – Physical Therapy Physician of Physical Therapy and Clinical Biomechanics Department, Researcher of Orthopedics, Biomechanics, Kinesiotherapy and Manual Therapy Department, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. E-mail: ekaterina-bokova@mail.ru

Razvalyaeva Darya V. – Physical Therapy Physician of Physical Therapy and Clinical Biomechanics Department, NMRC RB, Moscow, Russian Federation.

Kotenko Natalia V. – PhD in Medicine, Senior Researcher of Somatic Rehabilitation, Anti-Aging and Reproductive Health Department, Gynecologist, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. E-mail: doktorkot@gmail.com

Novikov Alexander W. – Doctor in Medicine, Professor, Chief Researcher of University Clinic, PRMU, N. Novgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8099-3791. E-mail: novik2.55@mail.ru

Shchedrina Marina A. – PhD in Medicine, Senior Researcher of Department of Reconstructive Plastic Surgery and Restorative Treatment of University Hospital, PRMU, N. Novgorod, Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

This work was carried out without additional funding.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study protocol was approved at a meeting of the local ethics committee of FSBI “National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology” of Ministry of Health of Russia No. 3 of 25.07.2016. All participants of the study signed an informed consent.

AUTHORS CONTRIBUTION

Marchenkova L.A. – development of research protocol, data analysis, writing the text of the article, formulation of conclu-

sions. Makarova E.V. – implementation of the clinical trial protocol, a set of materials under study, statistical processing, writing the text of the article. Eryomushkin M.A., Novikov A.V. –

scientific consultants. Shakurova L.R., Kotenko N.V., Chesnikova E.I., Styazkina E.M., Razvalyaeva D.V., Shchedrina M.A. – implementation of the clinical trial protocol, data collection.

Received 05.02.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Marchenkova L.A., Makarova E.V., Eryomushkin M.A., Shakurova L.R., Styazhkina E.M., Chesnikova E.I., Razvalyaeva D.V., Kotenko N.V., Novikov A.V., Shchedrina M.A. Muscular and strength deficiency in patients with osteoporotic compression vertebral fractures: osteoporosis as a risk factor for sarcopenia. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):27-38. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/03.

АВТОМАТИЗАЦИЯ МЕЛКОМОТОРНЫХ ДЕЙСТВИЙ В ФУНКЦИОНАЛЬНОМ ОБУЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ОНМК В РАННЕМ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

© Шутеева Т.В.¹, Никишина В.Б.², Петраш Е.А.¹, Черняховский О.Б.³

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова (РНИМУ им. Н.И. Пирогова)

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

³ Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии (НМИЦ РК)

Россия, 121099, г. Москва, ул. Новый Арбат, д. 32

Целью исследования является изучение автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения (ОНМК) в раннем восстановительном периоде.

Материалы и методы: общий объем выборки составил 41 пациента (в возрасте от 45 до 60 лет) с ОНМК по ишемическому типу, имеющих клинический диагноз: I63 – «Инфаркт мозга» (по МКБ-10). Оценка неврологического статуса осуществлялась с использованием шкалы NIHSS; степень когнитивных расстройств оценивалась по шкале MMSE. Организация исследования включала в себя три этапа: констатирующий (оценка исходной степени функциональных нарушений); формирующий (функциональное обучение); этап контрольного тестирования (оценка динамики показателей до и после прохождения функционального обучения). В исследовании были использованы следующие методы и методики: тест Френчай, набор функциональных нейропсихологических проб (проба «заборчик», фигуры Рея-Остеррица, проба «кулак-ребро-ладонь», проба на реципрокную координацию), аппаратно-программный комплекс «Визуальная медицина».

Результаты. В результате исследования выявлено улучшение функционального состояния ведущей руки, улучшение показателей динамического праксиса по критериям дифференциация и координация, улучшение показателей зрительно-конструктивных навыков, улучшение реципрокной координации по критериям темп, точность, дифференциация и координация. Полученные данные свидетельствуют о положительной динамике функционального состояния ведущей (правой) руки пациентов по темпово-динамическим, координационным и дифференцирующим основаниям. Последовательная активация произвольного и автоматизированного уровней организации движений через повторяемость произвольного запуска двигательных программ, основу которых составляют мелкомоторные действия, обеспечивает их автоматизацию.

Заключение. Возможность применяемого в функциональном обучении пациентов с ОНМК программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» визуальной демонстрации образцов выполнения как отдельных мелкомоторных действий, так и мелкомоторных действий, составляющих двигательную программу, обеспечивает переход от произвольного уровня организации движений к автоматизированному через механизм отзеркаливания.

Ключевые слова: автоматизация мелкомоторных действий, функциональное обучение, острые нарушения мозгового кровообращения, уровни организации движений.

Шутеева Татьяна Владимировна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-4009-2638. E-mail: ShuteevaTV@kursksmu.net

Никишина Вера Борисовна – д-р психол. наук, профессор, профессор кафедры организации непрерывного образования ФДПО, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID iD: 0000-0003-2421-3652. E-mail: vbnikishina@mail.ru

Петраш Екатерина Анатольевна – д-р психол. наук, доцент, доцент кафедры психологии здоровья и нейропсихологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-3177-088X. E-mail: petrash@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Черняховский Олег Борисович – д-р мед. наук, зам. директора, НМИЦ РК, г. Москва. ORCID iD: 0000-0002-1769-4403. E-mail: Olegcrb2@mail.ru

По оценкам, в 2012 году от сердечно-сосудистых заболеваний в мире умерло 17,5 миллиона человек, что составило 31% всех случаев смерти в мире. Ежегодная смертность от инсульта в России составляет 374 на 100 тыс. населения и остается одной из наиболее высоких в мире. Одна треть выживших после инсульта достигает незначительных функциональных результатов через 5 лет после начала

инсульта [3, 5, 10]. В клинической картине острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) одним из ведущих проявлений являются нарушения двигательных функций (преимущественно мелкомоторных), которые, в свою очередь, обеспечивают успешность социальной адаптации пациентов и их социальное функционирование.

Двигательные функции характеризуются иерархической структурой (включая рефлекторный, локомоторный, произвольный и автоматизированный уровни организации движений) и делятся на: функции поддержания позы тела (тоническая активность, реализуемая преимущественно медленными моторными единицами); собственно двигательные функции тела и его отдельных частей (фазная активность, обеспечиваемая преимущественно быстрыми моторными единицами). На рефлекторном уровне морфофункциональная организация движений обеспечивается активностью спинного мозга и стволовых отделов головного мозга; на локомоторном уровне включает в себя следующие структуры: субталамус, спинной мозг, красное ядро среднего мозга, ретикулярные ядра моста, вестибулярные ядра продолговатого мозга и моста, мозжечок и базальные ганглии. Морфофункциональная организация движений на произвольном уровне обеспечивается прецентральной извилиной лобной коры головного мозга, моторной корой, корой поясной извилины и ассоциативной лобной корой. Автоматизированный уровень движений обеспечивается базальными ганглиями, мозжечком и ассоциативной лобной корой.

Управление двигательными функциями также организовано иерархично. Морфологически система управления движениями обеспечивается на уровне структур спинного мозга, ствола головного мозга и корковых отделов головного мозга. Чем выше уровень сложности движений, тем более сложные программы управления реализуются. При выполнении какого-либо движения высшие центры запускают готовые моторные программы, заложенные (запрограммированные) в низших центрах, и формируют в конечном итоге из этих простых программ более сложные, которые в последующем автоматизируются.

В последние годы отмечается значительный прогресс в эффективности реабилитационно-восстановительных мероприятий пациентов с ОНМК, включая применение методов медикаментозной терапии, а также различных методов физиовосстановления, включая, в том числе, применение автоматизированных и роботизированных методов. При этом акцент делается на восстановлении отдельных двигательных функций без учета их последующей автоматизации. Именно автоматизация мелкомоторных действий обеспечивает восстановление двигательных программ, запуск и реализация которых позволяют восстанавливать навыки самообслуживания.

Так, терапия вынужденными движениями, как один из методов восстановления двигатель-

ных функций, подтвердила свою эффективность в работе с пациентами с ОНМК со стойкими нарушениями движений через 3-9 месяцев от начала заболевания [13]. Процедура данного вида терапии представляет собой активную тренировку паретичной конечности при искусственной иммобилизации неповрежденной руки, что позволяет отойти от привычного неиспользования паретичной руки [8]. Е.В. Костенко, Л.В. Петрова, А.В. Лебедева, А.Н. Бойко (2013), рассматривая комплексную реабилитацию пациентов с постинсультной спастичностью руки в амбулаторно-поликлинических условиях, установили, что применение ботулотоксина типа А (Ксеомин) в комплексной реабилитации больных с постинсультной спастичностью облегчает проведение кинезитерапии, ускоряет восстановление навыков самообслуживания, повышает качество жизни пациентов [4]. В.И. Тетиевский, А.А. Критари (2014) указывают на эффективность в комплексе с другими реабилитационными мероприятиями специально разработанных индивидуализированных программ гидротерапии, которые позволяют успешно противостоять развитию патологического процесса у пациентов, перенесших ОНМК. Данный метод, по мнению авторов, способствует также выраженному улучшению психоэмоционального состояния пациента за счет релаксации и седативного эффекта [9]. Исследователи также указывают на эффективность физической реабилитации пациентов, перенесших ОНМК [1], в том числе и с применением автоматизированных и компьютеризированных методов и технологий (например, роботизированной механотерапии) [7].

Таким образом, основные принципы реабилитации и восстановления пациентов с ОНМК ориентированы преимущественно на частые и интенсивные тренировки, направленные на конкретные задачи, функциональный подход [11].

При этом анализ множества накопленных эмпирических данных подтверждает необходимость задействования всех структурно-функциональных уровней организации движений в реабилитационно-восстановительном процессе [12].

Функциональное обучение пациентов с ОНМК предполагает последовательную активацию локомоторного, произвольного и автоматизированного уровней организации движений через повторяемость произвольного запуска двигательных программ, основу которых составляют мелкомоторные действия [6]. В основании функционального обучения лежит механизм отзеркаливания. Зеркальные нейроны возбуждаются как при выполнении определен-

ного действия, так и при наблюдении за выполнением этого действия. Активация (запуск) зеркальных нейронов обеспечивает построение и корректировку модели наблюдаемых действий, что, в свою очередь, позволяет обеспечить функции освоения как мелкомоторных навыков, так и навыков, связанных с речью. Применение программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» основано на возможности визуальной демонстрации образцов выполнения как отдельных мелкомоторных действий, так и мелкомоторных действий, составляющих двигательную программу, с возможностью предоставления визуальной обратной связи (пациенту одновременно предъявляется визуальный образец выполнения действия с аудиальным сопровождением и результат его выполнения пациентом) (рис. 1).

Целью исследования является изучение автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий объем исследовательской выборки составил 41 пациент с ОНМК по ишемическому типу в возрасте от 45 до 60 лет ($54,29 \pm 3,51$). Критерием включения испытуемых в исследовательские группы было наличие диагноза I63 – «Инфаркт мозга» (по МКБ-10) с полушарной локализацией очага ишемического инсульта, ранний восстановительный период инсульта. Критериями исключения являлись: признаки внутримозгового кровоизлияния любой локализации, ишемический инсульт в вертебробазилярном бассейне, тяжелая сопутствующая

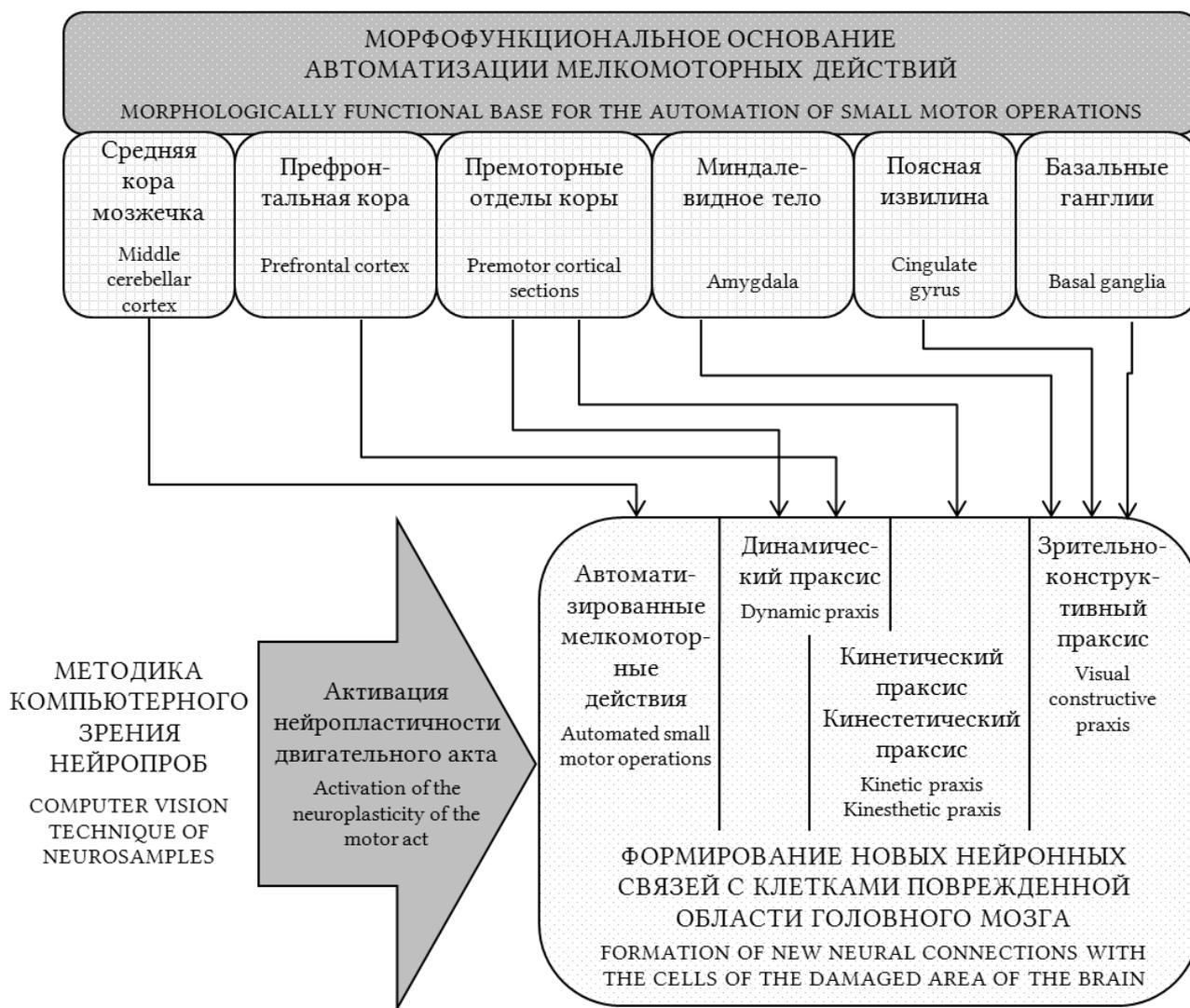


Рис. 1. Концептуально-методологическая схема исследования автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде.

Fig. 1. Conceptual and methodological scheme for the study of automation of fine-motor actions in the functional training of patients with stroke in the early recovery period.

соматическая патология, эпилепсия, психические расстройства. Характер очага поражения и инсульта определялся с использованием методов нейровизуализации – компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). В неврологическом статусе пациентов с ОНМК выявлены неврологические нарушения средней либо легкой степени тяжести, их оценка проводилась по шкале NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale); степень когнитивных расстройств оценивалась по MMSE (краткая шкала оценки психического статуса). У всех пациентов наблюдались моторные нарушения в виде гемипарезов на стороне контрлатеральной очагу поражения. Все пациенты уравнивались по уровню образования (имеют высшее образование).

Исследование проводилось на базах Курской областной клинической больницы (отделение для больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения) и санатория «Соловьиные зори» (отделения долечивания постинсультных пациентов, куда пациенты поступали в раннем восстановительном периоде). Работа с пациентами велась в первой половине дня с 12.00 до 14.00 часов индивидуально в одном и том же помещении.

Организация исследования включала в себя три этапа: констатирующий, формирующий и этап контрольного тестирования. Задачей первого этапа являлась оценка исходного уровня функций кинетического, кинестетического, динамического, пространственного и конструктивного праксиса, а также профиля латеральной организации (в исследовании принимали участие пациенты, перенесшие ишемический инсульт, с левополушарным профилем латеральной организации – праворукие). Задачей второго этапа являлось функциональное обучение пациентов, перенесших ишемический инсульт, с использованием метода компьютерного зрения (программно-аппаратный комплекс «Визуальная медицина»). На третьем, завершающем, этапе осуществлялась сравнительная оценка показателей динамики восстановления автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде до и после прохождения программы реабилитации (рис. 2).

В исследовании были использованы следующие методы и методики: тест Френчай, набор функциональных нейропсихологических проб (проба «заборчик», фигуры Рея-Остеррица, проба «кулак-ребро-ладонь», проба на реципрокную координацию), аппаратно-программный комплекс «Визуальная медицина». Аппаратно-программный комплекс представляет собой интерфейс пользователь-компьютер, технология

машинного зрения которого осуществляется за счет получения изображения через веб-камеру. Камера фиксирует выполнения заданий пациентом, и компьютер в автоматическом режиме дает обратную связь.

Нейропсихологические пробы оценивались по шкале Л.И. Вассерман по критериям темпа, точности, дифференцированности и координированности. Каждой пробе были присвоены свои числовые значения в зависимости от качества выполнения пробы: 0 баллов (отсутствие ошибок или «неспецифические» ошибки для той или иной группы, которые являются свойственными для здоровых испытуемых); 1 балл (несформированность функции слабовыраженного характера в виде мелких погрешностей, которые исправляются самим испытуемым без участия экспериментатора); 2 балла (несформированность функции средней степени; испытуемый выполняет задание после нескольких попыток; выполняет задание без развернутых подсказок и наводящих вопросов); 3 балла (несформированность функции, которая проявляется даже после подробного многократного разъяснения инструкции экспериментатором, что приводит к невыполнению задания) [2].

Статистическая обработка была произведена с помощью программы Excel и STATISTICA 10. Сравнительная оценка показателей до и после прохождения функционального восстановления осуществлялась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона ($p < 0,05$). Сравнение показателей экспериментальной и контрольной групп после завершения этапа функционального восстановления осуществлялось с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования исходного набора двигательных реакций, включающих функции кинетического, кинестетического, динамического, пространственного и конструктивного праксиса, наиболее существенные нарушения были выявлены при реализации функций динамического, пространственного и конструктивного праксиса на уровне дифференциации и координации двигательного акта. Нарушение темповых характеристик проявлялось в долгой вработываемости при выполнении проб (рис. 3).

Максимальное снижение у пациентов с ОНМК выявлено по показателям динамического и пространственного праксиса. Пациенты испытывали значительные затруднения при воспроизведении пространственного положения кистей рук как относительно внешних объектов

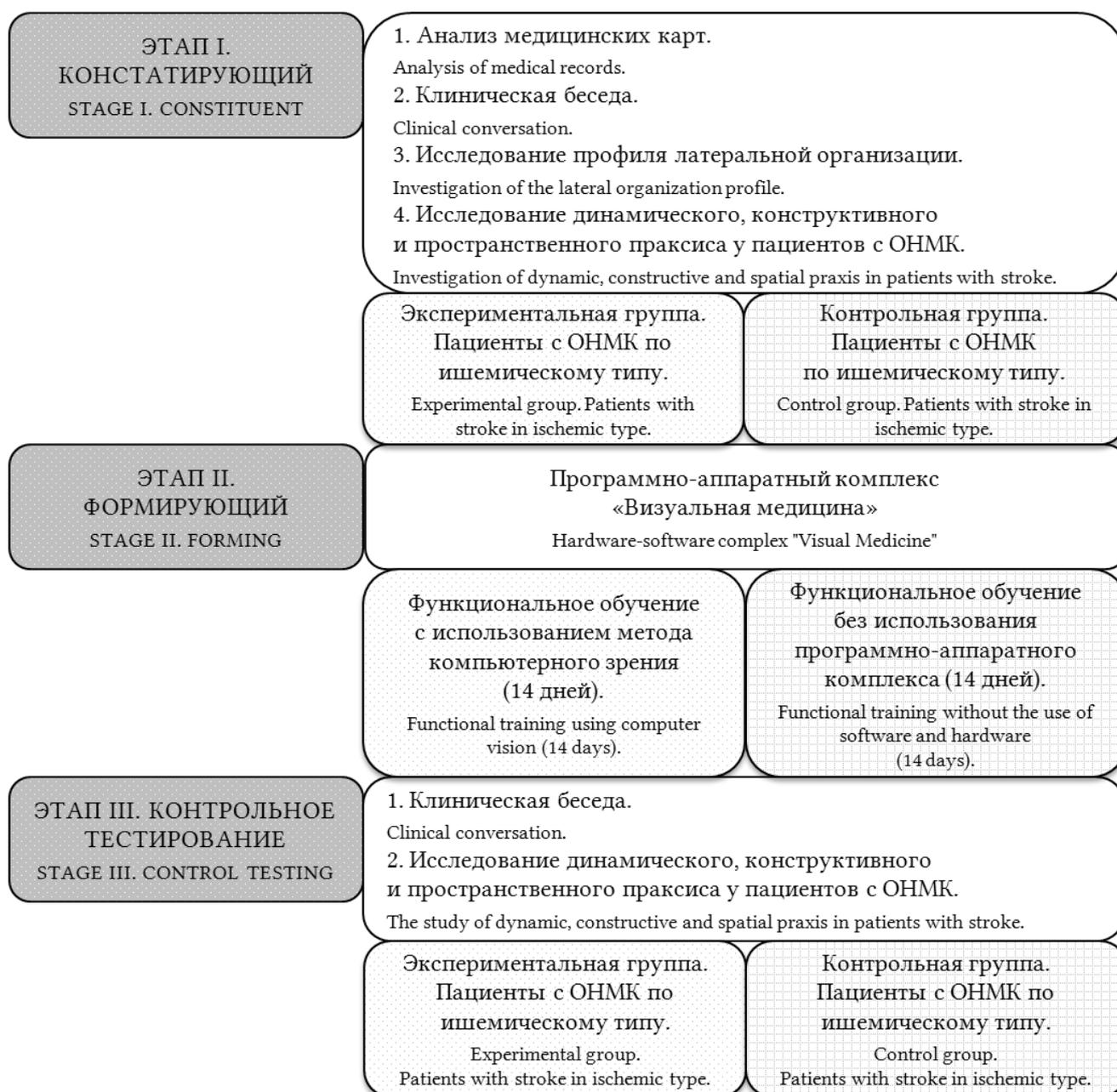


Рис. 2. Организация исследования автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде.

Fig. 2. Organization of the study of automation of fine-motor actions in the functional training of patients with stroke in the early recovery period.

(нарушение пространственной ориентировки), так и относительно частей собственного тела (нарушение квазипространственной ориентировки). Нарушение реципрокной координации, характеризующей динамический праксис, проявляется в отсроченном оттормаживании предшествующего действия (одновременное выполнение двух действий-антагонистов).

В результате оценки значимости различий (непараметрический U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$) в экспериментальной и контрольной группах статистически значимых различий не выявлено.

При исследовании показателей реальных и символических предметно-манипулятивных действий, основу которых составляют автоматизированные мелкомоторные движения, установлено, что пациенты с ОНМК испытывают значительные сложности в совершении мелкомоторных (реальных и символических) действий с предметами, связанные с необходимостью ориентирования руки относительно внешних предметов (например, взять стакан с водой), ориентирования предмета относительно себя (причесаться), ориентирования предмета относительно другого предмета (надеть прищепку на стержень) (рис. 4).

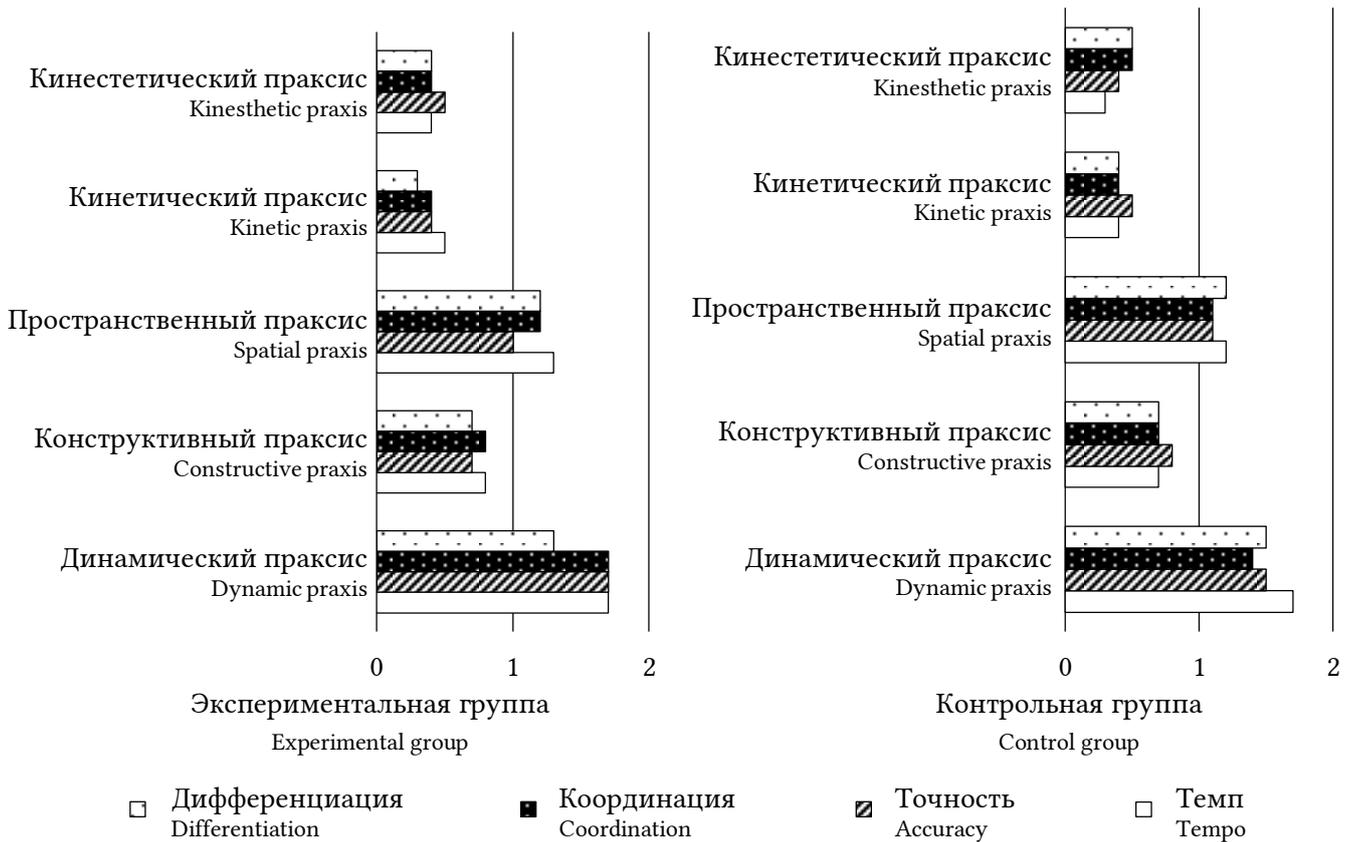


Рис. 3. Гистограммы средних значений показателей исходного уровня функций праксиса пациентов с ОНМК.

Fig. 3. Histograms of average values of indicators of the initial level of praxis functions of patients with stroke.

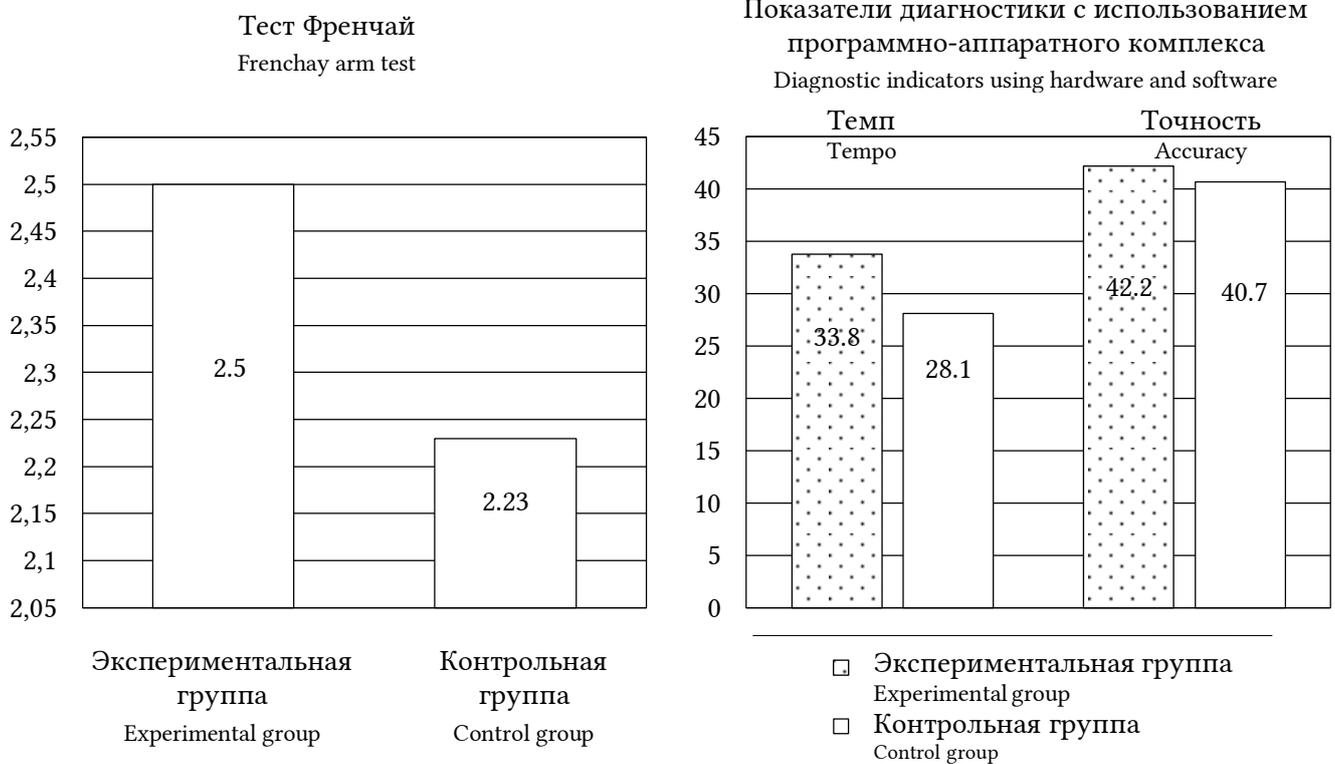


Рис. 4. Гистограммы средних значений показателей исходного уровня исследования манипулятивных возможностей рук.

Fig. 4. Histograms of average values of indicators of the initial level of researching the manipulative capabilities of hands.



Рис. 5. Факторная структура мелкомоторных действий пациентов с ОНМК.

Fig. 5. Factor structure of fine-motor actions of patients with stroke.

При этом показатели диагностики исходного уровня пространственного, динамического и конструктивного праксиса с использованием программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» соответствую данным, полученным при нейропсихологическом исследовании с использованием набора функциональных проб.

Оценивая факторную структуру мелкомоторных действий пациентов с ОНМК (через процедуру факторного анализа с varimax-вращением, $p < 0,05$), выявлено два фактора: пространственно-динамический и конструктивный в обеих группах испытуемых. В экспериментальной группе пространственно-динамический фактор включает в себя показатели реципрокной организации (-0,673) и пространственного праксиса (-0,654). Конструктивный праксис представлен снижением графодинамических показателей (-0,729) и кинестетического праксиса по зрительному образцу (-0,731) (рис. 5).

В контрольной группе пространственно-динамический фактор также включает в себя функции пространственного (-0,721) и динамического (-0,714) праксиса. Конструктивный фактор представлен показателями конструктивного (-0,624) и кинестетического праксиса (-0,612).

Таким образом, нарушения пространственно-динамического и конструктивного факторов приводят к снижению автоматизации мелкомоторных действий пациентов с ОНМК и, как следствие, нарушению выполнения и невозможности последующей автоматизации двигательных программ.

Выявленные нарушения факторной структуры мелкомоторных действий пациентов с ОНМК были заложены в основу программы функционального обучения с использованием программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина», которую проходили пациенты экспериментальной группы. Пациенты контрольной группы проходили восстановительное обучение с использованием традиционных методов, включающих функциональные нейропсихологические пробы.

В результате повторной оценки функций праксиса у пациентов с ОНМК с использованием программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» выявлена положительная динамика восстановления мелкомоторных действий в процессе функционального обучения (рис. 6).

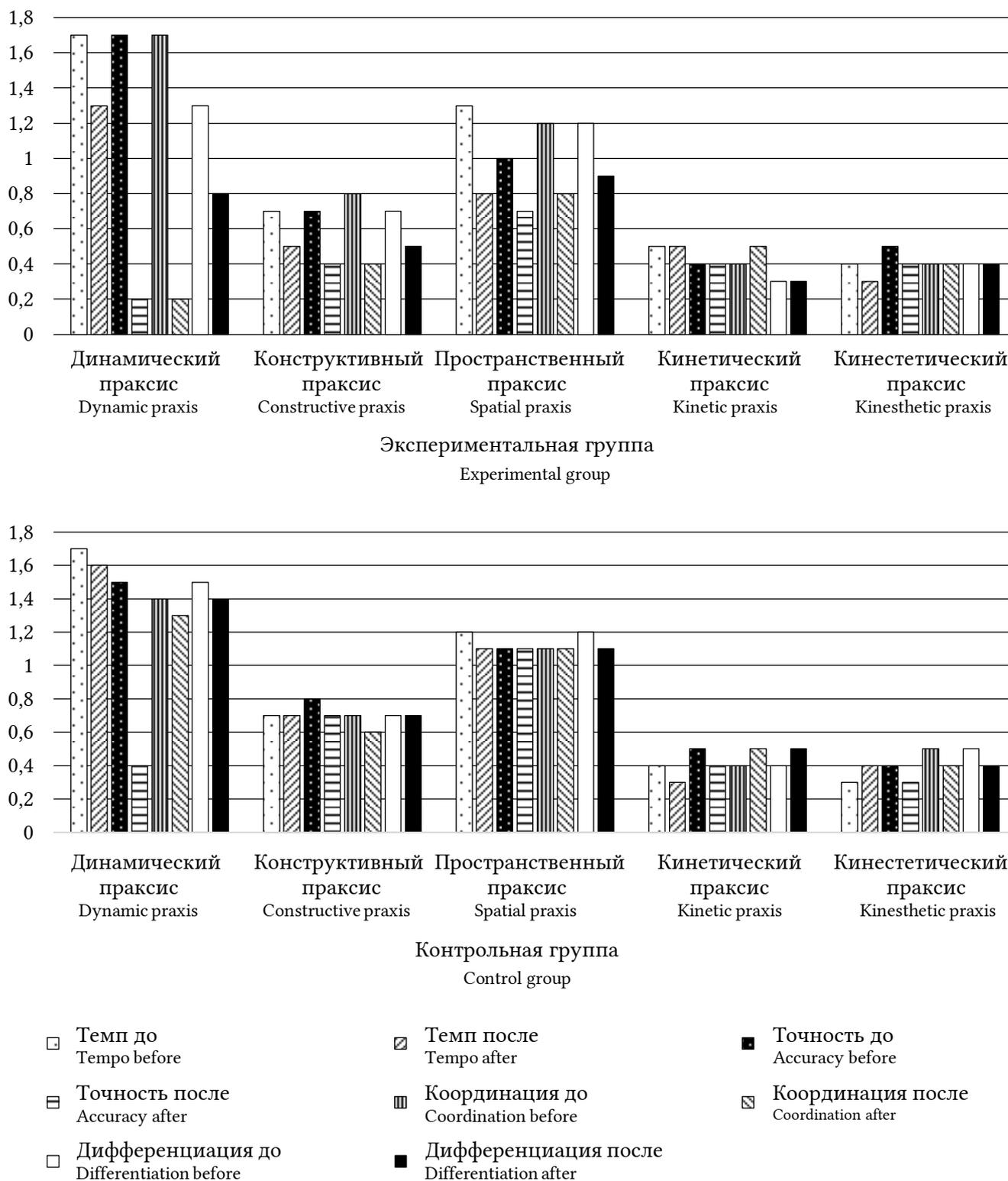


Рис. 6. Показатели динамики восстановления функций праксиса у пациентов с ОНМК до и после функционального обучения.

Fig. 6. Indicators of the recovery dynamics of praxis functions in patients with stroke before and af-ter functional training.

После завершения курса функционального обучения у пациентов с ОНМК в графодинамической пробе наблюдается нормализация линии рисунка в пространстве листа, уменьшение макро-/микрографий, уменьшений количества прерываний до 0-2, исчезновение персевераций элементов, что свидетельствует о тенденции к

восстановлению функции динамического праксиса. При воспроизведении фигуры Рея-Остеррица у пациентов с ОНМК после завершения программы функционального обучения наблюдается нормализация структурно-топологического отображения с сохранением целостности и пропорций как элементов, так и

рисунка в целом, что свидетельствует о тенденции к восстановлению оптико-пространственных характеристик мелкомоторных действий. При выполнении функциональной пробы «кулак-ребро-ладонь» у пациентов наблюдается повышение темпово-динамических характеристик, уменьшение количества персевераций и ошибок воспроизведения пространственного положения элементов моторной программы. Полученные данные свидетельствует о тенденции к функциональному восстановлению динамического праксиса. Также отмечается повышение темповых характеристик и уменьшение компенсаторных действий, что свидетельствует о тенденции к восстановлению реципрокной координации мелкомоторных действий.

В показателях диагностических единиц программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» отмечается улучшение функционального состояния мелкомоторных действий и их автоматизация на стороне поражения, увеличение темповых характеристик, а также повышение точности выполняемых проб эталонным предъявлениям (рис. 7).

Обобщая результаты исследования эффективности восстановления моторных функций у пациентов с ОНМК по ишемическому типу, выявлено: улучшение функционального состояния правой руки, улучшение показателей динамического праксиса по критериям дифференциация и координация, улучшение показателей зрительно-конструктивных навыков, улучшение реципрокной координации по критериям темп, точность, дифференциация и координация.

Таким образом, в результате исследования автоматизации мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОНМК в раннем восстановительном периоде использование метода компьютерного зрения свидетельствует о положительной динамике функционального состояния ведущей (правой) руки пациентов по темпово-динамическим, координационным и дифференцирующим основаниям. Последовательная активация произвольного и автоматизированного уровней организации движений через повторяемость произвольного запуска двигательных программ, основу

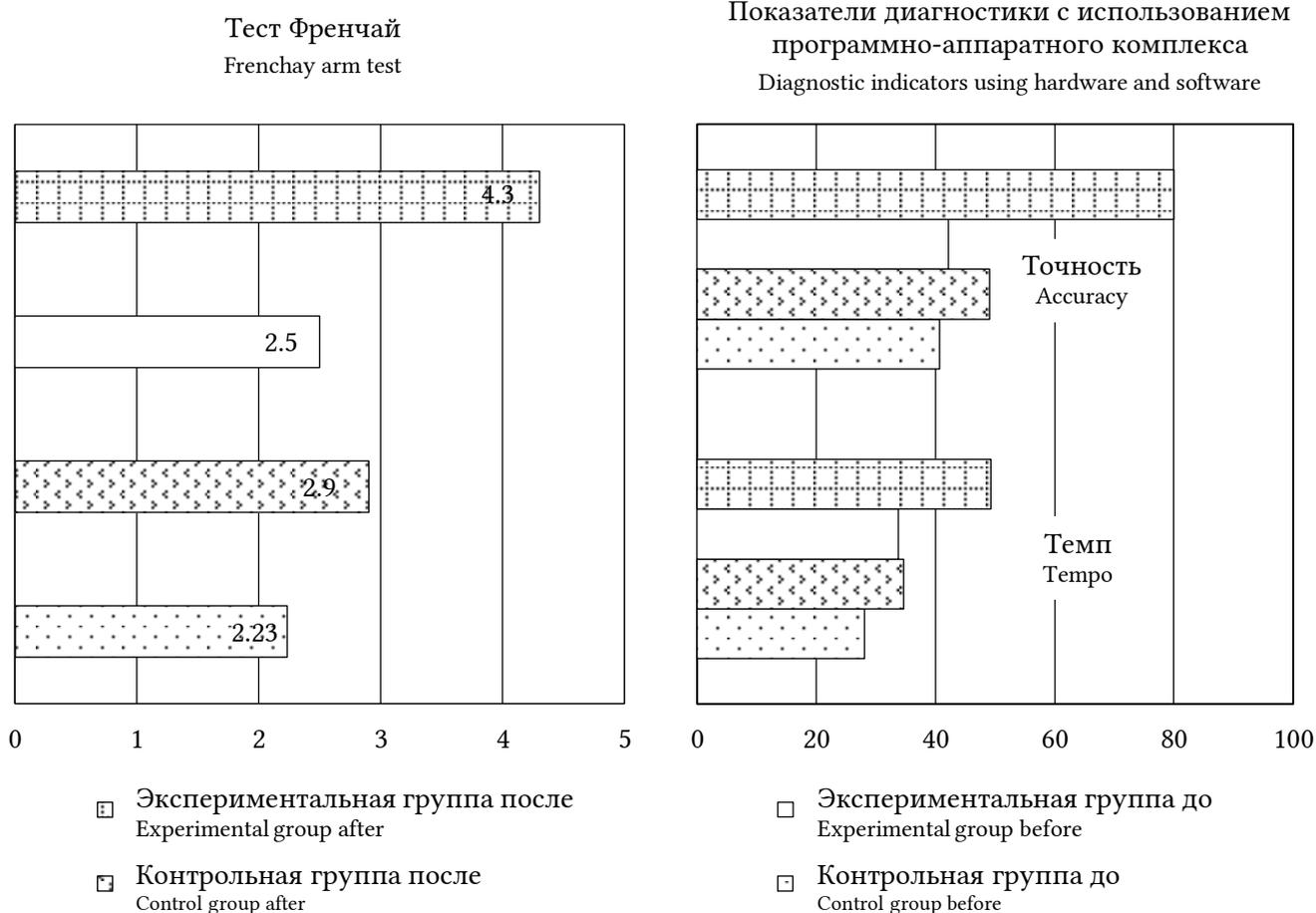


Рис. 7. Гистограммы средних значений показателей реальных и символических предметно-манипулятивных действий до и после функционального обучения.

Fig. 7. Histograms of average values of indicators of real and symbolic subject-manipulative actions before and after functional training.

которых составляют мелкомоторные действия, обеспечивает их автоматизацию. Возможность применяемого в функциональном обучении пациентов с ОНМК программно-аппаратного комплекса «Визуальная медицина» визуальной демонстрации образцов выполнения как отдельных мелкомоторных действий, так и мелкомоторных действий, составляющих двигательную программу, обеспечивает переход от произвольного уровня организации движений к автоматизированному через механизм отзеркаливания.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проводилось в условиях информированного согласия, подписанного пациентами, и было одобрено 11.05.2018 г. Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол № 4).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Архипов В.В., Привалов А.Н., Полойко А.А., Шестаков П.А. Опыт ранней физической реабилитации пациентов после ОНМК с использованием методики «S-E-T»-терапии на фоне применения нейропептидов. *Российский медицинский журнал*. 2010; 18(26): 1586-1590 [Arkhipov V.V., Privalov A.N., Poloyko A.A., Shestakov P.A. Experience of early physical rehabilitation of patients after CVA with the use of "SET"-therapy against the background of neuropeptides. *Russian Medical Journal*. 2010; 18(26): 1586-1590 (in Russ.)]
2. Вассерман Л.И., Дорофеева С.А., Меерсон Я.А. *Методы нейропсихологической диагностики*. Санкт-Петербург: Стройлеспечать, 1997. 360 с. [Vasserman L.I., Dorofeyeva S.A., Meyerson Ya.A. *Methods of neuropsychological diagnosis*. Saint-Petersburg: Stroylespechat', 1997. 360 p. (in Russ.)]
3. Демографический ежегодник России. 2017: Статистический сборник. Москва: Росстат, 2017. 263 с. [Demographic Yearbook of Russia. 2017: a Statistical compendium. Moscow: Rosstat, 2017. 263 p. (in Russ.)]
4. Костенко Е.В., Петрова Л.В., Лебедева А.В., Бойко А.Н. Комплексная реабилитация пациентов с постинсультной спастичностью руки в амбулаторно-поликлинических условиях. *Нервные болезни*. 2013;3: 30-38 [Kostenko E.V., Petrova L.V., Lebedeva A.V., Boyko A.N. Comprehensive rehabilitation of patients with post-stroke spasticity of the arm in outpatient settings. *Nervnyye bolezni*. 2013; 3: 30-38 (in Russ.)]
5. Машин В.В. Инсульты: статистика и актуальность для нашей страны. *Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium medicum*. 2014; 2: 24-25. [Mashin V.V. Strokes: statistics and relevance for our country. *Nevrologiya i revmatologiya. Appendix to the journal Consilium medicum*. 2014; 2: 24-25 (in Russ.)]
6. Никишина В.Б., Петраш Е.А., Шутеева Т.В., Никишин И.И., Никишина Е.И. Восстановительное обучение постинсультных пациентов методом нейропроб с помощью алгоритмов компьютерного зрения. *Неврологический вестник. Журнал им. В.М. Бехтерева*. 2018; 50(2): 83-88. [Nikishina V.B., Petrash E.A., Shuteeva T.V., Nikishin I.I., Nikishina E.I. Rehabilitation training method of post insult patients with the help of computer vision algorithms. *Nevrologicheskiy vestnik. Zhurnal im. V.M. Bekhtereva*. 2018; 50(2): 83-88 (in Russ.)]
7. Проказова П.Р., Пирадов М.А., Рябинкина Ю.В., Кунцевич Г.И., Гнедовская Е.В., Попова Л.А. Роботизированная механотерапия с использованием тренажера MOTomed letto2 в комплексной ранней реабилитации больных с инсультом в отделении реанимации и интенсивной терапии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2013; 7(2): 11-15 [Prokazova P.R., Piradov M.A., Ryabinkina Yu.V., Kuntsevich G.I., Gnedovskaya E.V., Popova L.A. Robotic mechanotherapy using the simulator MOTomed letto2 in the complex early rehabilitation of stroke patients in the intensive care unit. *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy neurologii*. 2013; 7(2): 11-15 (in Russ.)]
8. Самосюк И.З., Фломин Ю.В., Самосюк Н.И., Пионтковская Н.И. Восстановление двигательных функций после инсульта: нейрофизиологические основы и мишени для реабилитационных вмешательств. *Международный неврологический журнал*. 2012; 8(54): 9-19. [Samosyuk I.Z., Flomin Yu.V., Samosyuk N.I., Piontkovskaya N.I. Motor Recovery after Stroke: Neurophysiological Basis and Targets for Rehabilitation Interventions. *Mezhdunarodnyy neurologicheskiy zhurnal*. 2012; 8(54): 9-19 (in Russ.)]
9. Тетиевский В.И., Критари А.А. Индивидуализированные программы гидротерапии в условиях реабилитационного отделения для больных с острым нарушением мозгового кровообращения. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2014; 1: 55-56 [Tetievsky V.I., Kritari A.A. The individualized programs of hydrotherapy under conditions of a rehabilitation department for the patients presenting with acute disturbances of cerebral circulation. *Fizioterapiya, Bal'neologiya i Reabilitatsiya*. 2014; 1: 55-56 (in Russ.)]
10. Ярош А.С., Пирогова Л.А., Филина Н.А. Современное состояние проблемы острых нарушений мозгового кровообращения. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2014; 3(47): 17-20. [Yarosh A.S., Pirogova L.A., Philina N.A. Current status of the problem of acute disorders of cerebral circulation. *Journal of the Grodno state medical university*. 2014;3(47): 17-20 (in Russ.)]

11. Dewey H.M., Sherry L.J. Stroke rehabilitation 2007: what should it be? *Int J Stroke*. 2007; 2(3): 191-200. DOI: 10.1111/j.1747-4949.2007.00146.x.
12. Smith L.N., James R., Barber M., Ramsay S., Gillespie D., Chung C., Guideline Development Group. Rehabilitation of patients with stroke: summary of SIGN guidance. *BMJ*. 2010; 340: c2845. DOI: 10.1136/bmj.c2845.
13. Nudo R.J., Barbey S. *The mechanisms and neurophysiology of recovery from stroke*. In: Harvey R.L., Stein J., Winstein C.J., Wittenberg G., Zorowitz R.D. *Stroke recovery and rehabilitation*. New York: Demos Medical Publishing, LLC, 2009. p. 123-134. DOI: 10.1891/9781617051708.0007
14. Wolf S.L., Winstein C.J., Miller J.P., Taub E., Uswatte G., Morris D., Giuliani C., Light K.E., Nichols-Larsen D.; EXCITE Investigators. Effect of constraint-induced movement therapy on upper extremity function 3 to 9 months after stroke: the EXCITE randomized clinical trial. *JAMA*. 2006; 296(17): 2095-2104. DOI: 10.1001/jama.296.17.2095.

Поступила в редакцию 17.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Шутеева Т.В., Никишина В.Б., Петраш Е.А., Черняховский О.Б. Автоматизация мелкомоторных действий в функциональном обучении пациентов с ОИМК в раннем восстановительном периоде. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):39-50. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/04.

AUTOMATION OF FINE MOTOR ACTIONS IN THE FUNCTIONAL TRAINING OF PATIENTS WITH STROKE IN THE EARLY RECOVERY PERIOD

© Shuteeva T.V.¹, Nikishina V.B.², Petrash E.A.¹, Chernyakhovsky O.B.³

¹ Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

² Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)

1, Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russian Federation

³ National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology (NMRC RB)

32, Novy Arbat St., Moscow, 121099, Russian Federation

Objective. The aim of the research is to study the automation of fine motor skills in the functional training of patients with stroke in the early recovery period.

Materials and methods: the total selection amount was 41 patients (aged 45 to 60 years) with ischemic type of stroke with a clinical diagnosis: I63 - "Brain infarction" (according to ICD-10). Neurological status was assessed using the NIHSS scale; the degree of cognitive impairment was assessed by the MMSE scale. The organization of the study included three stages: ascertaining (assessment of the initial degree of functional impairment); formative (functional learning); the stage of control testing (assessment of the dynamics of indicators before and after the passage of functional training). The study used the following methods and techniques: Frenchay arm test, a set of functional neuropsychological tests ("fence" test, Rey-Osterrieth complex figure test (ROCF), "fist-palm edge-palm" test, reciprocal coordination test), «Visual Medicine» hardware-software complex.

Results. The study revealed an improvement in the functional state of the leading hand, an improvement in dynamic praxis indicators according to the differentiation and coordination criteria, an improvement in visual-constructive skills, an improvement in reciprocal coordination according to the criteria of tempo, accuracy, differentiation, and coordination. The obtained data testify to the positive dynamics of the functional state of the leading (right) hand of patients according to the tempo-dynamic, coordination and differentiating bases. Sequential activation of voluntary and automatic movements through the repeatable arbitrary start of motor programs, which are based on fine-motor actions, ensures their automation.

Conclusion. The possibility of using software-hardware complex "Visual Medicine", namely visual demonstration of patterns of both individual fine-motor actions and fine-motor actions that make up the motor program, used in functional training of patients with stroke, provides for the transition from a voluntary level of movements to an automatic one through the mirroring mechanism.

Keywords: automation of fine motor actions, functional training, acute disorders of cerebral circulation, levels of organization of movements.

Shuteeva Tatyana V. – PhD in Medicine, Associate Professor, Associate Professor of Neurology and Neurosurgery Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-4009-2638. E-mail: ShuteevaTV@kursksmu.net

Nikishina Vera B. – Doctor of Psychology, Professor, Professor of the Department of Organization of Continuing Education FDPO, RNRMU, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-2421-3652. E-mail: ybnikishina@mail.ru

Petrash Ekaterina A. – Doctor of Psychology, Associate Professor, Associate Professor of Health Psychology and Neuropsychology Department, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3177-088X. E-mail: petrash@mail.ru (correspondence author)

Chernyakhovsky Oleg B. – DM, Deputy Director, NMRC RB, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1769-4403. E-mail: Olegcrb2@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The research was conducted under the conditions of informed consent signed by patients and was approved by the Regional Ethical Committee under Kursk State Medical University of 11.05.2018 (Protocol No. 4).

Received 17.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Shuteeva T.V., Nikishina V.B., Petrash E.A., Chernyakhovsky O.B. Automation of fine motor actions in the functional training of patients with stroke in the early recovery period. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):39-50. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/04.

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ПРИ ВВЕДЕНИИ КЛИЕНТ-ОРИЕНТИРОВАННОГО ПОДХОДА

© Маркелов Ю.М.¹, Лесонен А.С.¹, Костина О.²

¹ Петрозаводский государственный университет (ПетрГУ)
Россия, 185035, Республика Карелия, г. Петрозаводск, ул. Красноармейская, д. 31

² ООО «Неофарм-Северо-запад»
Россия, 195027, Санкт-Петербург, ул. Большая Пороховская, д. 24

Целью исследования являлась оценка эффективности затрат на лечение пациентов с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью. Была рассчитана и исследована клиничко-экономическая эффективность лечения при введении клиент-ориентированного подхода.

Материалы и методы. Для выполнения задач исследования были проанализированы официальные ежегодные статистические отчеты противотуберкулезной службы по Республике Карелия за 2012-2014 гг. и 115 медицинских карт взрослых больных, постоянных жителей Республики Карелия, которые находились на стационарном и амбулаторном лечении в течение 2012-2014 гг. в ГБУЗ «Республиканский противотуберкулезный диспансер» (РПТД) по поводу впервые выявленного легочного ТБ с МЛУ МБТ. При анализе затрат учитывалась стоимость лекарственных препаратов, обследования, лечения и питания в стационаре.

Результаты. Установлено, что введение продуктивных пакетов снизило затраты на лечение одного пациента с первичной множественной лекарственной устойчивостью в два раза с 1,4 млн руб. до 700 тысяч руб. с 2012-го по 2014 год. Показано, что снижение показателей стоимости лечения одного пациента достигается за счет снижения отрывов от лечения. Расчет окупаемости вложений в продуктивные пакеты показал, что в 2013 году она составила 17 рублей, а в 2014 году – 31 рубль.

Заключение. Этот показатель показывает рентабельность вложений в клиент-ориентированные методы мотивации пациентов в виде предоставления социальных пакетов.

Ключевые слова: туберкулез, множественная лекарственная устойчивость, клиничко-экономическая эффективность, клиент-ориентированный подход.

Маркелов Юрий Михайлович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии, ПетрГУ, г. Петрозаводск. ORCID iD: 0000-0003-0791-0050. E-mail: markelov@petsu.ru

Лесонен Анна Сергеевна – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакологии, организации и экономики фармации, ПетрГУ, г. Петрозаводск. ORCID iD: 0000-0002-2972-3216. E-mail: kuzmanna@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Костина Ольга – провизор, ООО «Неофарм-Северо-запад», г. Санкт-Петербург. ORCID iD: 0000-0001-9286-2983. E-mail: fortova.olga@yandex.ru

Распространение туберкулеза (ТБ) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ) в течение последних лет в Российской Федерации представляет наиболее высокую эпидемиологическую опасность. К штаммам МБТ с МЛУ относят штаммы с одновременной лекарственной устойчивостью к двум наиболее эффективным противотуберкулезным препаратам – изониазиду и рифампицину. В 2002 году штаммы МБТ с МЛУ внесены в список наиболее опасных инфекционных агентов. Лекарственно-устойчивый туберкулез остается глобальной проблемой здравоохранения в мире. По различным оценкам, в 2017 году туберкулез в мире развился у 10 миллионов человек, из них 558 000 человек имели туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью. Согласно данным ВОЗ, в 2016 году умерло от туберкулеза с МЛУ – 190 000 человек, а эффективность лечения туберкулеза с МЛУ МБТ в мире составила 75% [1, 2].

В республике Карелия (РК) сохраняются низкие показатели эффективности лечения туберкулеза с МЛУ – 42%, при этом удельный вес ТБ с МЛУ в общей структуре заболеваемости растет. Распространение туберкулеза с МЛУ сопровождается огромными экономическими затратами (стоимость курса лечения 1 случая с МЛУ составляет около 10 тыс. дол. США) и увеличением риска смертности от туберкулеза [3].

Основной проблемой республики Карелия остается высокий уровень распространенности туберкулеза с МЛУ МБТ, что наряду с недостаточным уровнем развития экономики для обеспечения адекватного финансирования дорогостоящего лечения туберкулеза с МЛУ МБТ является серьезным бременем для бюджета РК [3]. В результате большой продолжительности лечения, составляющего не менее 20 месяцев, а также наличия множества побочных эффектов противотуберкулезных препаратов резервного ряда, основной проблемой неэффективности терапии является досрочное прекращение лечения –

«отрыв от лечения». Незавершенное лечение больных с МЛУ МБТ создает дополнительную угрозу – увеличение спектра лекарственной устойчивости с формированием лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам резервного ряда и распространению широкой лекарственной устойчивости. Для повышения мотивации к длительному приему противотуберкулезных препаратов и предотвращения «отрывов от лечения» используются пациент-ориентированные методы, включающие в себя различные мероприятия – контроль за приемом пациентами лекарств на всех стадиях лечения, социальное обеспечение, доставка противотуберкулезных препаратов больным на дом, помощь в решении социальных проблем (оплата проезда в медицинские учреждения и др.). Одним из методов, повышающих мотивацию пациентов к длительному ежедневному приему противотуберкулезных препаратов как важнейшему условию излечения туберкулеза с МЛУ, является ежемесячное снабжение пациентов продуктовыми наборами на протяжении всего амбулаторного лечения, при условии регулярного приема противотуберкулезных препаратов [5, 6].

Лечение ТБ с МЛУ согласно стандартам лечения проводится по IV режиму и включает большой набор противотуберкулезных препаратов (не менее 6 препаратов): пиразинамид, капреомицин, левофлоксацин, протионамид, циклосерин, аминосалициловая кислота. Длительность лечения составляет 20-24 месяцев, включая 2 фазы лечения: фазу интенсивной терапии (240 доз лекарственных препаратов в течение 8 мес), которую до прекращения бактериовыделения проводят в условиях стационара (ФИТ – фаза интенсивной терапии) и фазу продолжения лечения (от 360 до 540 доз лекарственных препаратов в течение 12-18 мес, не менее 4 препаратов, без использования инъекционных препаратов), которую пациент получает в амбулаторных условиях по месту жительства (ФПЛ – фаза продолжения лечения) [4].

Целью работы являлась оценка эффективности затрат на лечение пациентов с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью в 2008-2014 гг. в Республике Карелия. Была рассчитана и исследована клинико-экономическая эффективность лечения при введении клиент-ориентированного подхода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выполнения задач настоящего исследования были проанализированы официальные

ежегодные статистические отчеты противотуберкулезной службы по РК за 2012-2014 гг. и 115 медицинских карт взрослых больных, постоянных жителей Республики Карелия, которые находились на стационарном и амбулаторном лечении в течение 2012-2014 гг. в ГБУЗ «Республиканский противотуберкулезный диспансер» (РПТД) по поводу впервые выявленного легочного ТБ с МЛУ МБТ.

Расчет экономической эффективности лечения одного пациента (N) проводился на основании анализа затрат, исходя из количества больных, взятых на лечение по IV режиму (лечение больных с МЛУ МБТ), и фактическими результатами лечения. Длительность и стоимость стационарного этапа лечения рассчитана из средней длительности пребывания в стационаре больных туберкулезом с МЛУ МБТ во время I фазы интенсивной химиотерапии в соответствии с утвержденными бюджетными ассигнованиями Республиканского противотуберкулезного диспансера РК и результатам эффективности лечения, согласно общепринятым критериям по следующей формуле:

$$N = \text{стоимость лечения всех пациентов} / \text{количество излеченных пациентов.}$$

Окупаемость вложений 1 рубля в соц. пакеты рассчитывалась по формуле:
для 2012-2013 года:

$$Sp = (\text{Клин. эффективность за 2012 год без пакета (т.к. они еще не были введены)} - \text{Клин. эффективность за 2013 год с пакетом}) / \text{Затраты на пакет на одного человека;}$$

для 2013-2014 года:

$$Sp = (\text{Клин. эффективность за 2013 год с пакетом} - \text{Клин. эффективность за 2014 год с пакетом}) / \text{Затраты на пакет на одного человека.}$$

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы Microsoft Office Excel 2010 с применением описательного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ 115 медицинских карт взрослых больных легочным туберкулезом с впервые выявленным легочным ТБ с множественной лекарственной устойчивостью МБТ, взятых на лечение в 2012-2014 гг.

При расчете затрат на лечение пациентов с МЛУ учитывали стоимость лекарственных препаратов (курса ХТ), обследования, стоимости питания и 1 койко-дня в стационаре в I фазу лечения (таблица 1).

Таким образом, как видно из табл. 1, стоимость лекарственных препаратов в сутки на 1 больного составляет 602,60 рубля в первую фазу лечения (пиразинамид – 5,0 руб., левофлоксацин – 154,0 руб., протионамид – 13,0 руб., циклосерин – 143,0 руб., капреомицин – 130,0 руб., аминосалициловая кислота – 157,6 руб.; во 2-ю – 315,0 руб. (пиразинамид – 5,0 руб., левофлоксацин – 154,0 руб., протионамид – 13,0 руб., циклосерин – 143,0 руб.). Количество доз в первой фазе составляет 240, во второй – 360. Соответственно, стоимость химиотерапии в первой фазе составляет 144624,0 руб.; во второй – 119486,0 рубля на одного пациента. Общая стоимость лекарственных средств за весь курс терапии одного пациента составляет 258024,0 рубля.

Количество койко-дней (120) рассчитывали, исходя из сроков среднего пребывания на койке больных ТБ с МЛУ, до прекращения ими бактериовыделения по мазку мокроты. На данный койко-день влияли также показатели высокой летальности и частые отрывы от лечения, что сокращало средние сроки пребывания в стационаре. Стоимость 1 койко-дня в стационаре составляет 1500,0 рубля, и складывается из стоимости питания – 150,0 руб.; коммунальных услуг, оплаты труда медицинского персонала и др.

Обследование в ФИТ (стационар), согласно утвержденным стандартам [4], включает в себя бактериоскопию мокроты, посев мокроты на микобактерии туберкулеза, определение лекарственной устойчивости, клинический анализ крови каждый месяц, обзорную рентгенограмму грудной клетки, томографическое исследование каждые 2 месяца, биохимическое исследование крови (АЛАТ, АСАТ, тимоловые пробы, билиру-

бин), электрокардиографию, общий анализ мочи, анализ крови на ВИЧ, RW, HCV, HBS. Стоимость обследования в ФИТ 1 больного составляет 10918,0 рубля; в ФПЛ (амбулаторное лечение) – 6086,0 руб.

Таким образом, общая стоимость лечения в период I фазы интенсивной химиотерапии составляет 353524,0 руб., в период амбулаторного лечения – 119486,0 руб. Итого, стоимость лечения одного пациента с МЛУ составила 473028,0 рубля, что на 31,3% меньше, чем в среднем по РФ (688 410,00 рубля на курс), что связано с меньшей стоимостью стационарного этапа лечения и сокращением времени пребывания в стационаре.

В связи с тем, что расчет экономической эффективности лечения 1 пациента ТБ с МЛУ МБТ рассчитывается исходя из общей затраченной суммы на лечение всех пациентов по отношению к количеству излеченных пациентов, показатели стоимости лечения отличаются в несколько раз по сравнению с фактическими затраченными средствами.

Как видно из таблицы 2, при введении пациент-ориентированных технологий с использованием продуктовых наборов эффективность лечения в 2013 и 2014 гг. существенно повысилась за счет снижения отрывов от лечения (2012 – 36,8%; 2013 – 16,3%; 2014 – 17,6%).

Несмотря на то, что экономическая эффективность излечения одного пациента значительно превышает фактическую стоимость лечения, с 2012 по 2014 годы наблюдается снижение стоимости излечения 1 пациента с первичной устойчивостью в два раза с 1,4 млн руб. до 700 тысяч руб., в основном в связи с сокращением «отрывов от лечения» (числа пациентов, досрочно прекративших лечение).

Таблица 1

Table 1

Состав затрат на лечение одного пациента с туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью

The composition of treatment costs per one patient with multidrug-resistant tuberculosis (MDRT)

Прямые затраты Direct costs	Фаза интенсивной терапии Intensive care phase	Фаза продолжения терапии Phase of ongoing therapy
Стоимость койко-дней, в том числе питание, руб. (120 дней) The cost of bed-days, including meals, rub. (120 days)	198 000	–
Обследование, руб Examination, rub	10 918	6 086
Лекарственные препараты, руб. Medicines, rub.	144 624	113 400
Общая стоимость лечения, руб. The total cost of treatment, rub.	353 524	119 486
Итого за 2 фазы, руб. Total for 2 phases, rub.	473 028	

Стоимость излечения одного пациента с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью

The cost of treating a patient with first diagnosed multidrug-resistant tuberculosis

Год	Количество взятых на лечение	Количество излеченных	Количество «отрывов» от лечения	Стоимость лечения когорты пациентов с МЛУ (руб.)	Стоимость излечения одного пациента с МЛУ (руб.)	Стоимость продуктовых пакетов (руб.)	Клинико-экономическая эффективность излечения одного пациента (руб.)
Year	The number of patients	The number of cured	The number of "breaks" in treatment	The cost of treating a cohort of patients with MDRT (rub.)	The cost of treatment of one patient with MDRT (rub.)	Cost of food packages (rub.)	Clinical and economic efficiency of treatment of one patient (rub.)
2012	38 (100%)	11 (28.9%)	14 (36.8%)	15 939 252	1 449 022.9	–	1 449 022.9
2013	43 (100%)	16 (37.2%)	7 (16.3%)	18 638 522	1 164 907.6	602 000	1 202 532.6
2014	34 (100%)	20 (58%)	6 (17.6%)	14 737 436	736 871.8	476 000	760 671.8

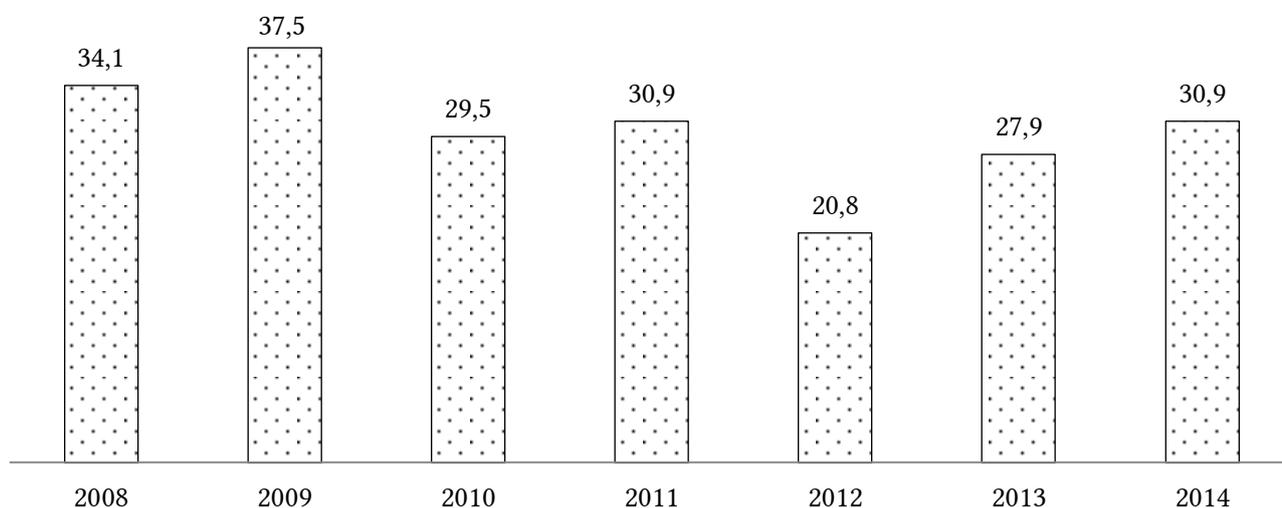


Рис. 1. Случаи прерывания лечения среди пациентов с первичной МЛУ, 2008-2014 гг., %

Fig. 1. Cases of treatment interruption among patients with primary MDRT, 2008-2014, %

Снижение показателей стоимости лечения одного пациента достигается за счет снижения отрывов от лечения пациентами. На рисунке 1 видно, что введение программ пациент-ориентированного лечения в виде продуктовых корзин значительно повлияло на снижение доли случаев прерывания лечения в структуре первичной МЛУ.

Введение продуктового пакета увеличивает стоимость лечения всего на 2,96% и составляет 487028,0 руб. В эту сумму включены стоимость обеспечения 1 пациента продуктовыми пакетами на протяжении лечения – 14000 рублей (по 1 пакету стоимостью 1000 рублей в течение 14 месяцев) и стоимость лечения одного пациента с МЛУ – 473028,0 руб.

Расчет окупаемости вложений в продукто-вые пакеты показал, что в 2013 году она соста-

вила 17 рублей, а в 2014 году – 31 рубль. Этот показатель отражает рентабельность вложений в клиент-ориентированные методы мотивации пациентов в виде предоставления социальных пакетов.

Расчет окупаемости вложений в 2012-2013 году:

$$Sp = (1449022,9 - 1202532,6)/14000 = 17,6,$$

где 1449022,9 руб. – клинико-экономическая эффективность лечения пациента с МЛУ в 2012 году (продуктовые пакеты еще не были введены);

1202532,6 руб. – клинико-экономическая эффективность лечения пациента с МЛУ в 2013 году с внесением в стоимость лечения продуктового пакета.

14000 руб. – стоимость курса пакетов (1 пакет стоимостью 1000 рублей в месяц в течение 14 месяцев).

Расчет окупаемости вложений в 2013-2014 году:

$$Sp = (1202532,6 - 760671,8)/14000 = 31,6,$$

где 1202532,6 руб. – клинико-экономическая эффективность лечения пациента с МЛУ в 2013 году с внесением в стоимость лечения продуктового пакета;

760671,8 руб. – клинико-экономическая эффективность лечения пациента с МЛУ в 2014 году с внесением в стоимость лечения продуктового пакета;

14000 руб. – стоимость курса пакетов (1 пакет стоимостью 1000 рублей в месяц в течение 14 месяцев).

Таким образом, оценка эффективности затрат больных с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью с 2012 по 2014 гг. в Республике Карелия показала, что введение социальных пакетов снизило затраты на лечение 1 пациента с первичной МЛУ с 1,4 млн рубля в 2012 до 0,7 млн рубля в 2014 году в основном за счет сокращения отрывов от лечения (с 38,3% до 17,6%), достигнутого введением мотивационной поддержки в виде социальных пакетов. При этом окупаемость вложения 1 рубля в социальные пакеты в 2013 – 2014 году составила 31,6 рубля.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Маркелов Ю.М. – обоснование рукописи; проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Лесонен А.С., Костина О. – разработка концепции и дизайна, непосредственное участие в получении исходных данных, анализ и интерпретация данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено протоколом комитета по медицинской этике при Министерстве здравоохра-

нения Республики Карелия и Петрозаводском государственном университете № 42 от 13 марта 2019 г.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Всемирная организация здравоохранения. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом 2017 г. Женева, 2017. 262 с. [World health organisation. *Global tuberculosis control report 2017*. Geneva, 2017. 262 p. (in Russ.)]
2. Галкин В.Б., Стерликов С.А., Баласанянц Г.С., Яблонский П.К. Динамика распространенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью. *Туберкулез и болезни легких*. 2017; 95(3):5-11. [Galkin V.B., Sterlikov S.A., Balasanyants G.S., Yablonskiy P.K. Dynamics of prevalence of multidrug-resistant tuberculosis. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2017; 95(3):5-11 (in Russ.)] DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-3-5-12
3. Маркелов Ю.М. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и причины его распространения в Карелии. *Туберкулез и болезни легких*. 2011; 88(8):11-17. [Markelov Yu. M. The clinical and epidemiological features of multidrug-resistant tuberculosis and reasons for its spread in Karelia. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2011; 88(8):11-17 (in Russ.)]
4. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Тверь: Издательство «Триада», 2014. 72 с. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of respiratory tuberculosis with multiple and broad drug resistance of the pathogen. Tver': Izdatel'stvo «Triada», 2014. 72 p. (in Russ.)]
5. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е., Ивахненко О.И., Новоселова Е.А., Шевкун Н.А. Лекарственно-устойчивый туберкулез: перспективы ускоренной диагностики и химиотерапии. *Бактериология*. 2017; 2(1):25-34. [Chernousova L.N., Andreyevskaya S.N., Smirnova T.G., Larionova E.E., Ivakhnenko O.I., Novoselova E.A., Shevkun N.A. Drug-resistant tuberculosis: the prospects for accelerated diagnostics and chemotherapy. *Bakteriologiya*. 2017; 2(1):25-34 (in Russ.)]
6. Ягудина Р.И., Скоровиков И.В. Фармакоэкономика туберкулеза: методологические особенности проведения исследования. *Фармакоэкономика теория и практика*. 2014; 2(4):10-13. [Yagudina R.I., Skorovikov I.V. Pharmacoeconomics of tuberculosis: methodological features of the study. *Farma-koeconomika teoriya i praktika*. 2014; 2(4):10-13 (in Russ.)]

Поступила в редакцию 17.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Маркелов Ю.М., Лесонен А.С., Костина О. Фармакоэкономический анализ эффективности лечения пациентов с впервые выявленным туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью при введении клиентоориентированного подхода. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):51-56. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/05.

PHARMACOECONOMIC EVALUATION OF TREATMENT EFFECTIVENESS AFTER INTRODUCING A CLIENT-ORIENTED APPROACH FOR PATIENTS WITH PRIMARY MULTIDRUG RESISTANT TUBERCULOSIS

© Markelov Yu.M.¹, Lesonen A.S.¹, Kostina O.²

¹ Petrozavodsk State University (PetrSU)

31, Krasnoarmeiskaya St., Petrozavodsk, Karelia Republic, 185035, Russian Federation

² “Neopharm-Severo-zapad” LLC

24, Bolshaya Porokhovskaya St., Saint Petersburg, 195027, Russian Federation

Objective. The research purpose was to evaluate the cost efficiency of treating first diagnosed patients with multidrug resistant tuberculosis. Clinical and economic efficiency of the treatment was designed and investigated in introducing a client-oriented approach.

Materials and methods. To solve the research problems we analyzed the official 2012-2014 annual statistical reports of Tuberculosis Control Service in Karelia Republic and 115 medical cards of adult patients, permanent residents of Karelia Republic who had undergone in- and out-patient treatment during 2012-2014 in the Republic Tuberculosis Clinic for the first diagnosed pulmonary TB with multidrug resistance. The costs for drugs and medical items, examinations, treatment and meal in the hospital were taken into account.

Results. It was established that food packs halved the treatment expenditures per one patient with primary multidrug resistant TB from 1.4 million rubles to 700 thousand rubles from 2012 till 2014. The decrease in the costs indexes of treatment per one patient is achieved by in-hospital treatment without interrupting. The returns of investments into food packs made 17 rubles in 2013 and – 31 rubles in 2014.

Conclusion. This indicator shows the profitability of investments into client-oriented methods of motivating patients by way of providing social food packs.

Key words: tuberculosis, multidrug resistance, clinical and economic efficacy, client-oriented approach.

Markelov Yuri M. – DM, Professor, Professor of Department of Faculty Therapy (Intermediate Course of Therapy), Phthisiatry, Infectious Diseases and Epidemiology, PetrSU, Petrozavodsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0791-0050. E-mail: markelov@petrsu.ru

Lesonen Anna S. – PhD in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of Department of Pharmacology, Pharmaceutical Policy and Economics, PetrSU, Petrozavodsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2972-3216. E-mail: kuzmanna@mail.ru (correspondence author)

Kostina Olga – Pharmacist, “Neopharm-Severo-zapad” LLC, Saint Petersburg, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9286-2983. E-mail: fortova.olga@yandex.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the protocol of the Committee on Medical Ethics under the Ministry of Health of the Republic

of Karelia and Petrozavodsk State University No. 42 of March 13, 2019.

AUTHORS CONTRIBUTION

Markelov Yu.M. – substantiation of the manuscript; critical revision of the manuscript for important intellectual content; final approval of the manuscript for publication. Lesonen A.S., Kostina O. – concept and design development, direct participation in obtaining initial data, analysis and interpretation of data.

Received 17.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Markelov Yu.M., Lesonen A.S., Kostina O. Pharmacoeconomic evaluation of treatment effectiveness after introducing a client-oriented approach for patients with primary multidrug resistant tuberculosis. *Kursk Scientific and Practical Bulletin “Man and His Health”*. 2019;(2):51-56. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/05.

СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНОЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ СЕМАКСА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФОРМАЦИОННОГО СТРЕССА

© Ясенявская А.Л.¹, Самотруева М.А.¹, Мясоедов Н.Ф.², Андреева Л.А.²

¹ Астраханский государственный медицинский университет (АГМУ)

Россия, 414000, Астраханская область, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

² Институт молекулярной генетики Российской академии наук (ИМГ РАН)

Россия, 123182, Москва, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2

Цель исследования: изучение стресс-протекторного и иммуномодулирующего действия Семакса в условиях информационного стресса.

Материалы и методы. Исследование, посвященное изучению стресс-протекторного и иммунокорректирующего действия Семакса (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) в условиях экспериментального информационного стресса, выполнено на белых нелинейных крысах-самцах. Формирование стресс-реакции в условиях информационного воздействия подтверждали наличием «стрессорной триады», включающей гипертрофию надпочечников, снижение числа эозинофилов в периферической крови и наличие эрозивно-язвенного поражения слизистой оболочки желудка. Кроме этого, для оценки реактивности организма рассчитывали индекс напряженности адаптации по Л.Х. Гаркави – как показатель сбалансированности ответной реакции клеток крови на стрессогенный фактор. Функциональную активность иммунной системы лабораторных животных оценивали на основании стандартных иммунофармакологических тестов: реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ), реакции прямой гематглютинации (РПГА), латексного теста по изучению фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, оценки изменений лейкоцитарной формулы.

Результаты. Установлено, что в условиях информационного стресса изменения иммунного реагирования имеют разнонаправленный характер, что подтверждает теорию «иммунного дисбаланса» при действии стрессирующих факторов. В результате изучения влияния Семакса в условиях информационного стресса было установлено, что препарат проявил себя как эффективный стресс-протектор и иммунокорректор, снижая стресс-реактивные проявления, восстанавливая клеточную и гуморальную реакции иммуногенеза, а также фагоцитарную активность нейтрофилов.

Заключение. Данное исследование расширяет базы научных изысканий в области иммунореагирования в условиях стресс-индуцированных состояний, с целью последующей разработки фармакологической стратегии коррекции выявленных нарушений посредством веществ нейропептидной структуры.

Ключевые слова: информационный стресс; Семакс; реакция гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ); реакция прямой гематглютинации (РПГА); фагоцитарный индекс (ФИ); фагоцитарное число (ФЧ).

Ясенявская Анна Леонидовна – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, АГМУ, г. Астрахань. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: yasen_9@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Самотруева Марина Александровна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, АГМУ, г. Астрахань. ORCID iD: 0000-0001-5336-4455. E-mail: ms1506@mail.ru

Мясоедов Николай Федорович – д-р хим. наук, профессор, академик РАН, зав. отделом химии физиологически активных веществ, ИМГ РАН, г. Москва. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

Андреева Людмила Александровна – канд. хим. наук, рук. сектора регуляторных пептидов отдела химии физиологически активных веществ, ИМГ РАН, г. Москва. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Интенсификация ритма жизни современно-го человека предполагает увеличение информационной нагрузки на организм, вызывающее нарушение функционального состояния организма в условиях неблагоприятного сочетания факторов информационной триады: объема информации, подлежащей обработке с целью принятия решений; дефицита времени, отведенного для такой работы мозга; высокой мотивации принятия оптимального решения. Нередко нагрузка настолько сильная, что трансформируется в так называемый информационный стресс, который, как и другие виды стресса, проявляется функциональными нарушениями со стороны различных систем организма, в том числе и иммунной [7, 15, 17, 19].

Иммунитет, являясь одним из основных регуляторов гомеостаза, играет одну из главных ролей в процессах адаптации организма к стрессогенным воздействиям. В качестве возможных сигнальных путей при реализации действия стресс-лимитирующих систем интерес представляют регуляторные пептидные молекулы (пептидные гормоны, нейропептиды и др.). Данные предположения привели к формированию концепции пептидной регуляции иммунологических функций организма, что, в свою очередь, дает начало развитию одного из научных направлений, свидетельствующих о возможном практическом внедрении нейропептидной регуляции, а именно разработке новых высокоэффективных лекарств на осно-

ве пептидных гормонов и нейропептидов. Важно подчеркнуть, что молекулы в виде коротких фрагментов пептидных соединений, характеризующихся высокой степенью безопасности ввиду их полной протеолитической деградации, представляют собой новый путь к регуляции и координации функций различных систем организма, в частности иммунной [1, 2, 3, 13, 16, 22]. Кроме того, актуальность использования данных соединений в качестве основы для создания стресс-протекторов и иммуномодуляторов подчеркивается тем, что они, являясь филогенетически наиболее древними регуляторами межклеточных взаимодействий, широко представлены во многих системах организма, влияют на синтез и активность эндогенных нейро- и иммуномедиаторов, проявляют нейротрофические свойства, а также участвуют в формировании компенсаторно-приспособительных реакций организма в ответ на действие различных стрессогенных факторов [2, 22].

В качестве перспективного средства коррекции стресс-индуцированных нарушений иммунной системы интерес представляет Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro), препарат из группы аналогов нейропептидов, которому принадлежит важная роль среди известных регуляторов гомеостаза, участвующих в формировании адаптации к стрессорным факторам [9, 21]. Семакс – один из наиболее востребованных нейропептидных лекарственных препаратов, зарегистрированных на территории Российской Федерации, характеризуется многофакторным нейропротекторным и нейрорегенеративным действием, совмещая свойства нейропротектора, антиоксиданта, нейрометаболического и ноотропного средства, обладает антигипоксическим действием, способствует улучшению памяти и внимания, а также уменьшению тяжести клинических проявлений ишемического инсульта [16, 21, 23, 24]. Однако, несмотря на то что Семакс уже длительное время используется в клинической медицине, исследования, направленные на расширение спектра фармакологических свойств, активно продолжаются.

Цель исследования: изучение стресс-протекторного и иммуномодулирующего действия Семакса в условиях информационного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на белых нелинейных крысах-самцах 6-8 месячного возраста, которых на протяжении всего эксперимента содержали в стандартных условиях вивария. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Приказом Минздрава России № 199н

от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Лабораторные животные были разделены на 3 группы (n=10): группа интактных самцов; группа животных, которых на протяжении 20 дней подвергали стрессорному воздействию (информационный стресс); и группа животных, получавших интраназально 0,1% раствор Семакса (АО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген», Россия) в дозе 150 мкг/кг/сут курсом 20 дней на фоне 20-дневного стрессорного воздействия (информационный стресс). Информационный стресс моделировали путем формирования пищедобывательного поведения в многоальтернативном лабиринте [11]. Для усложнения задачи, поставленной перед животными, структуру лабиринта меняли каждый день.

Для подтверждения формирования стресс-реакции в условиях информационного воздействия устанавливали наличие «стрессорной триады», заключающейся в исследовании слизистой оболочки желудка с целью выявления эрозивно-язвенных образований, определения массы надпочечников и подсчета количества эозинофилов в периферической крови [12].

Следует отметить, что наряду с нервной и эндокринной составляющими стресс-реакции в качестве «узлового» звена в формировании стресс-синдрома фигурирует гематологическая компонента. Следует отметить, что система крови, являясь одной из ключевых гомеостатических систем организма, играет важную роль в формировании компенсаторно-приспособительных реакций организма при стрессогенных воздействиях, а лейкоцитарная формула является интегральным показателем данных изменений. Причиной лейкоцитарных перестроек часто является общая мобилизация защитных механизмов организма, поэтому она с успехом используется для оценки неспецифической реакции адаптации. Для оценки реактивности организма рассчитывали индекс напряженности адаптации по Л.Х. Гаркави – лейкоцитарный коэффициент, отражающий отношение числа лимфоцитов к числу сегментоядерных нейтрофилов в лейкоцитарной формуле [4].

Для изучения функциональной активности иммунной системы животных применяли стандартные иммунофармакологические методы: реакция гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) с определением индекса реакции, реакция прямой гемагглютинации (РПГА) с определением титра антител, латексный тест по изучению фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, а также изучение показателей лейкоцитарной формулы. Важно отметить, что при формировании специфиче-

ского иммунного ответа у лабораторных животных в условиях эксперимента при постановке РГЗТ и РПА в качестве антигенного стимула применяли корпускулярный Т-зависимый антиген – эритроциты барана [10].

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови применяли латексный тест с использованием гепаринизированной крови животных. В качестве тест-объекта использовали меланово-формальдегидные латексы. Активность нейтрофилов определяли по следующим показателям: фагоцитарный индекс или % фагоцитоза (количество нейтрофилов с латексом из 100); фагоцитарное число (кол-во частиц латекса/100).

Для определения содержания количества лейкоцитов крови исследуемых животных осуществляли забор крови при выведении животных из эксперимента из крупных сосудов шейной области. Подсчет осуществляли в камере Горяева. Процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов оценивали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

Результаты эксперимента статистически обрабатывали с использованием программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1. Для обработки полученных результатов использовали пара-

метрический метод (определение t-критерия Стьюдента). Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного эксперимента у животных, подвергавшихся воздействию информационного стресса, наблюдалась гипертрофия надпочечников, а также определялось снижение числа эозинофилов в периферической крови и эрозивно-язвенное поражение слизистой оболочки желудка (таблица 1). Наряду с перечисленными показателями стресс-реакции, установлено снижение индекса напряженности адаптации, отражающего отношение числа лимфоцитов к числу сегментоядерных нейтрофилов в лейкоцитарной формуле, что также свидетельствует о формировании стресса (таблица 2). Индекс Гаркави можно рассматривать как показатель сбалансированности ответной реакции клеток крови на стрессогенный фактор. Снижение индекса является негативным моментом с намечающейся тенденцией к возможной несостоятельности адаптационных реакций, в том числе со стороны иммунной системы, при формировании стресса. Особенно настораживает

Таблица 1
Table 1

Влияние Семакса на выраженность «стрессорной триады» у животных в условиях информационного стресса

The influence of Semax on the severity of the "stress triad" in animals under conditions of informational stress

Показатели (M ± m) Indicators (M ± m)	Относительный коэффициент массы надпочечников, мг/100 г веса животного Relative adrenal mass coefficient, mg / 100 g animal weight	Относительное число эозинофилов в периферической крови по показателям лейкоцитарной формулы, % The relative number of eosinophils in the peripheral blood on indicators of leukocyte formula, %	Степень эрозивно-язвенного поражения слизистой оболочки желудка The degree of erosive and ulcerative lesions of the gastric mucosa
Экспериментальные группы (n=10) Experimental groups (n=10)			
Контроль Control	12.1 ± 1.7	6.5±0.7	0.4 ± 0.2
Информационный стресс Informational stress	17.9 ± 1.7*	3.0±0.5**	1.8 ± 0.3***
Семакс (150 мкг/кг/сут) + Информационный стресс Semax (150 mcg / kg / day) + Informational stress	13.3 ± 0.9##	4.5±0.5*#	1.1 ± 0.2#

Примечание:* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно стрессированных животных (t-критерий Стьюдента).

Note: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – relative to the control; # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.01$; ### – $p < 0.001$ – relative to stressed animals (Student's t-test).

Влияние Семакса на показатели лейкоцитарной формулы животных
в условиях информационного стресса

The influence of Semax on the leukocyte formula of animals under conditions of informational stress

Экспериментальные группы (n = 10) Experimental groups (n=10)	Контроль Control	Информационный стресс Informational stress	Семакс (150 мкг/кг/сут) + Информационный стресс Semax (150 mcg / kg / day) + Informational stress
Показатели (M ± m) Indicators (M ± m)			
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$ The total number of leucocytes, $\times 10^9 / \text{l}$	10.8±0.8	8.5±0.6*	10.1±0.4
Эозинофилы, % Eosinophils,%	6.5±0.7	3.0±0.5**	4.5±0.5*#
Палочкоядерные нейтрофилы, % Band neutrophils,%	1.4±0.1	1.2±0.2	1.5±0.3
Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmental neutrophils,%	28.1±3.5	53.0±2.5***	38.5±1.8*###
Лимфоциты, % Lymphocytes,%	60.6±4.9	39.0±3.8**	51.1±3.1#
Моноциты, % Monocytes,%	3.4±0.6	2.8±0.5	3.0±0.5
Лейкоцитарный коэффициент, % Leukocyte ratio,%	242.1±36.2	76.1±3.9***	126.2±7.9**###

Примечание:* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно стрессированных животных (t-критерий Стьюдента).

Note: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – relative to the control; # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.01$; ### – $p < 0.001$ – relative to stressed animals (Student's t-test).

значительное снижение лейкоцитарного коэффициента как закономерное отражение уже имеющейся лимфопении, что подтверждено в нашем эксперименте. Этот тип реакции адаптации определяют как «стрессовый» [14].

Анализ полученных данных в ходе эксперимента свидетельствует о формировании в условиях информационной нагрузки иммунного дисбаланса, проявляющегося активацией одних и угнетением других звеньев иммунитета. Установлено, что 20-дневная информационная нагрузка сопровождается подавлением специфического антиэритроцитарного иммунного ответа в виде РГЗТ и РПГА: индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа снизился более чем на 50% ($p < 0,01$); снижение титра антител в реакции прямой геммагглютинации составило 90% ($p < 0,01$) по сравнению с показателями контрольной группы (рисунок 1).

В условиях введения Семакса животным, подвергавшимся воздействию информационного стресса, наблюдалось повышение индекса РГЗТ более чем в 2, 5 раза ($p < 0,001$). Что касается образования антиэритроцитарных антител в РПГА, то показатели титра геммагглютининов

повысились более чем в 2 раза ($p < 0,05$) относительно стрессированных животных (рисунок 1).

При изучении показателей фагоцитарной активности в условиях информационного стресса было установлено, что данное воздействие сопровождалось активацией фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ). Отмечалось увеличение фагоцитарного индекса практически на 20% ($p > 0,05$), фагоцитарного числа – более чем на 30% ($p < 0,05$), что свидетельствует о гиперреактивности неспецифического звена иммунной системы (рисунок 2).

При оценке показателей фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови в группе животных, получавших Семакс на фоне воздействия информационного стресса, было установлено, что введение препарата приводит к снижению фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса более чем на 20% ($p < 0,05$) относительно стрессированных животных (таблица 2).

Одним из этапов экспериментальной работы было изучение влияния информационного стресса на общее количество лейкоцитов и показатели лейкоцитарной формулы, а также лейкоцитарный коэффициент (лимфоциты/сегментоядерные нейтрофилы). В группе стрессиро-

ванных животных наблюдалось снижение общего количества лейкоцитов более чем на 20% ($p < 0,05$) по отношению к показателям контрольной группы. В лейкоцитарной формуле отмечалось снижение процентного содержания эозинофилов у стрессированных животных более чем на 50% ($p < 0,01$), лимфоцитов на 35% ($p < 0,01$), также следует отметить статистически значимое увеличение сегментоядерных нейтрофилов почти в 2 раза относительно контрольных показателей. Индекс напряженности адаптации по Л.Х. Гаркави (лейкоцитарный коэффициент) был снижен на 70% относительно контрольной группы (таблица 2).

Установлено, что Семакс на фоне информационного стресса способствовал увеличению общего количества лейкоцитов практически на 20% ($p > 0,05$), а также эозинофилов практически на 50% ($p < 0,05$) и лимфоцитов более чем на 30% ($p < 0,05$). Кроме того, введение данного препарата приводило к снижению сегментоядерных форм нейтрофилов практически на 30% ($p < 0,05$). При оценке лейкоцитарного коэффициента отмечено статистически значимое увеличение данного показателя на 65% относительно стрессированных животных (таблица 1).

В результате проведенного эксперимента было установлено, что под воздействием информационного стресса изменения иммунореактивности имеют разнонаправленный харак-

тер, что свидетельствует о формировании иммунного дисбаланса, проявляющегося активацией одних и подавлением других звеньев иммунитета. Так, экспериментальное моделирование информационного стресса, подтвержденное формированием «стрессорной триады» и снижением лейкоцитарного коэффициента, сопровождалось подавлением показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета, увеличением фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа, снижением общего количества лейкоцитов, а также эозинофилов и лимфоцитов. В ходе изучения влияния Семакса в условиях информационного стресса было установлено, что применяемый препарат в опытных группах проявил себя как эффективный стресс-протектор и иммунокорректор, подавляя стресс-реактивные проявления, восстанавливая клеточную и гуморальную реакции иммунитета, показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и лейкоцитарной формулы.

Как и все регуляторные пептиды, данный препарат обладает полифункциональными эффектами, доказанными ранее, среди которых отмечается антиастеническое, антиамнестическое, антигипоксическое, анксиолитическое, ноотропное и нейротрофическое действие [5, 9]. Кроме этого установлено, что Семакс может обладать как стресс-лимитирующим [20], так и стресс-потенцирующим воздействием [6].

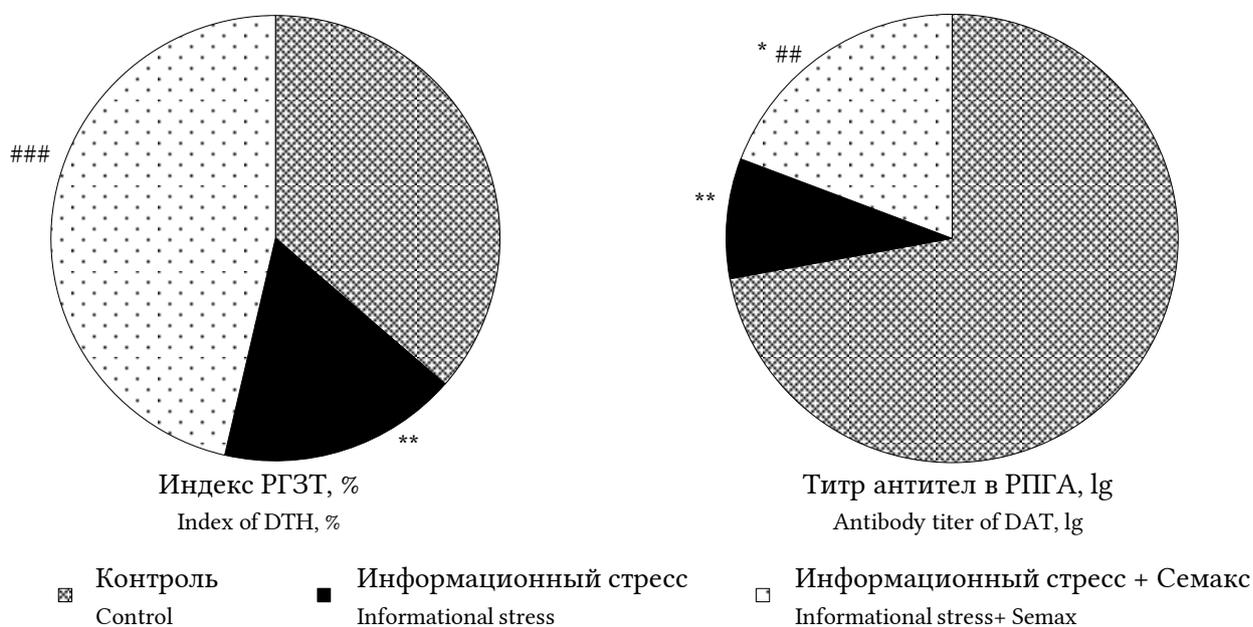


Рис. 1. Влияние Семакса на формирование РГЗТ и РПА в условиях информационного стресса.

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно стрессированных животных (t-критерий Стьюдента).

Fig. 1. The influence of Semax on the formation of DTH and DAT under conditions of informational stress.

Note: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – relative to the control; # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.01$; ### – $p < 0.001$ – relative to stressed animals (Student's t-test).

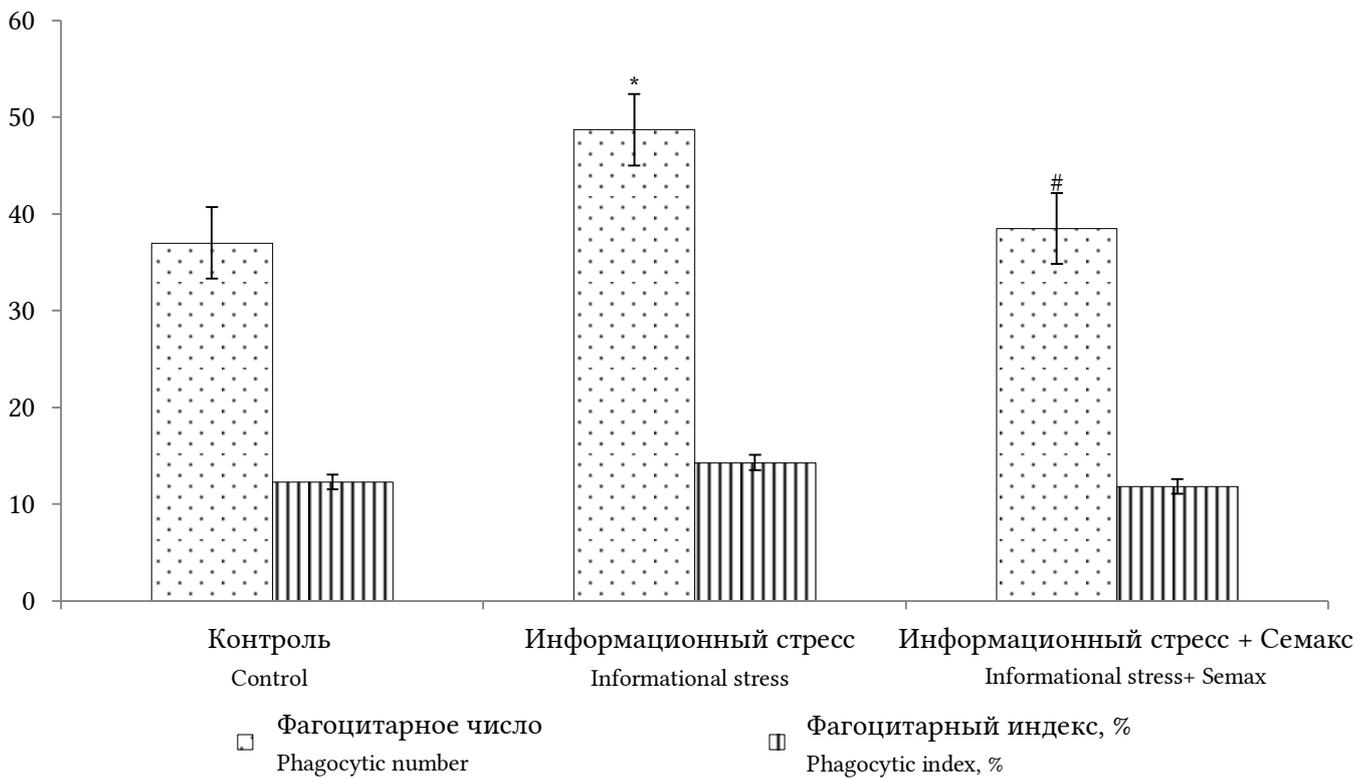


Рис. 2. Влияние Семакса на фагоцитарную активность нейтрофилов в условиях информационного стресса.

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – относительно контроля; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – относительно стрессированных животных (t-критерий Стьюдента).

Fig. 2. The effect of Semax on phagocytic neutrophil activity under conditions of informational stress.

Note: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – relative to the control; # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.01$; ### – $p < 0.001$ – relative to stressed animals (Student's t-test).

Что касается использования данного пептида в качестве иммуномодулятора, то проводились эксперименты демонстрирующие активацию адаптивного иммунитета с целью коррекции иммунного статуса и устранения дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных факторов при заболеваниях центральной нервной системы, сопровождающихся нарушением иммунного ответа, в частности инсульта [9]. В экспериментах на мышах показано влияние меланокортинов на клеточный иммунитет в виде модулирующего эффекта на адгезию, распластывание и миграцию макрофагов. [8].

Полученные данные в ходе нашего эксперимента свидетельствуют о наличии ярко выраженного стресс-протекторного и иммуномодулирующего свойств Семакса. Важно отметить, что влияние изучаемого нейропептида из группы меланокортинов на иммунную систему наблюдали и ранее [5, 9], но в данном аспекте действие Семакса изучается впервые.

Таким образом, данное исследование актуализирует поиск новых стресс-протекторов и иммунокорректоров среди веществ нейропептидной природы. Фундаментальный подход

данной работы подчеркивает важность научных изысканий в области иммунореагирования в условиях стресс-индуцированных состояний, в частности информационного стресса, с целью последующей разработки фармакологической стратегии коррекции посредством веществ нейропептидной природы, характеризующихся широким спектром действия, а также высокой степенью безопасности ввиду их полной протеолитической деградации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования одобрен этическим комитетом Астраханского государственного медицинского университета (протокол № 8 от 24 ноября 2015 года).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: истоки и перспективы развития. *Успехи физиологических наук*. 2003; 34(4):4-15 [Akmayev I.G. Neuro-immunoendocrinology, its Developmental Consideration. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2003; 34(4):4-15 (in Russ.)].
2. Ашмарин И.П., Королева С.В. Закономерности взаимодействия и функциональный континуум нейропептидов (на пути к единой концепции): Обзор. *Вестник Российской академии наук*. 2002; 6:40-48 [Ashmarin I.P., Koroleva S.V. The patterns of interactions and functional continuum of neuropeptides (on the way to a single concept): Review. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2002; 6:40-48 (in Russ.)].
3. Булгакова О.С. Иммунитет и различные стадии стрессорного воздействия. *Успехи современного естествознания*. 2011; 4:31-35 [Bulgakova O.S. The immune system and different stages of stress. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2011; 4:31-35 (in Russ.)].
4. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. *Адаптационные реакции и резистентность организма*. Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета, 1990. 120 с. [Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Ukolova M.A. *Adaptive reactions and resistance of the organism*. Rostov-on-don: Publishing house of Rostov University, 1990. 120 p. (in Russ.)].
5. Додонова С.А., Бельх А.Е., Бобынцев И.И. Регуляторные пептиды семейства меланокортинов: биосинтез, рецепция, биологические эффекты. *Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье"*. 2018; (1):99-108 [Dodonova S.A., Belykh A.E., Bobyntsev I.I. Regulatory peptides of the melanocortin family: biosynthesis, reception, biological effects. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2018; (1):99-108. (in Russ.)] DOI: 10.21626/vestnik/2018-1/15.
6. Иванова Д.М., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние семакса на болевую чувствительность животных в различных экспериментальных моделях. *Доклады Академии наук*. 2003; 388(3):416-419 [Ivanova D.M., Levitskaya N.G., Andreeva L.A., Alfeeva L.Y., Kamenskii A.A., Myasoyedov N.F. The effect of semax on animal pain sensitivity in various experimental models. *Doklady Biological Sciences*. 2003; 388(1-6):5-8 (in Russ.)].
7. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. Особенности иммунного статуса и факторы риска хронического течения Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей. *Новая наука: Современное состояние и пути развития*. 2016; 8:16-20 [Kasymova E.B., Bashkina O.A., Galimzyanov Kh.M. Features of the immune status and risk factors for chronic Epstein-Barr viral infection in children. *Novaya nauka: Sovremennoye sostoyaniye i puti razvitiya*. 2016; 8:16-20 (in Russ.)].
8. Ковалицкая А.Ю., Фунтикова А.Н., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В. Действие АКПГ-подобных пептидов на миграцию и расплавление перитонеальных макрофагов мыши *in vitro*. *Российский иммунологический журнал*. 2011; 5-14(1):3-10 [Kovalitskaya Yu.A., Funtikova A.N., Sadovnikov V.B., Navolotskaya E.V. The influence of АСТН-like peptides on migration, adhesion and spreading of mouse peritoneal macrophages *in vitro*. *Russian Journal of Immunology*. 2011; 5-14(1):3-10 (in Russ.)].
9. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Виленский Д.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование спектра физиологической активности аналога АКПГ₄₋₁₀ гептапептида семакс. *Нейрохимия*. 2008; 25(1):111-118 [Levitskaya N.G., Glazova N.Yu., Sebensova E.A., Manchenko D.M., Vilenskiy D.A., Andreyeva L.A., Kamenskiy A.A., Myasoyedov N.F. Study of the spectrum of physiological activity of АСТН₄₋₁₀ analog of heptapeptide semax. *Neurochemical Journal*. 2008; 25(1):111-118 (in Russ.)].
10. Миронов Н.А., Бунятян Н.Д., Васильев Н.А., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепяхин В.К., Коробов Н.В., Меркулов В.А. и др. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. Москва: Гриф и К; 2012. 944 с. [Mironov N.A., Bunyatyan N.D., Vasil'yev N.A., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K., Korobov N.V., Merkulov V.A. et al. *Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one*. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (in Russ.)].
11. Никольская К.А., Савоненко А.В., Осипов А.И., Ещенко О.В., Карась А.Я. Информационная роль инстинкта при организации целенаправленного поведения. *Успехи современной биологии*. 1995; 115(4):390-396 [Nicol'skaya K.A., Savonenko A.V., Osipov A.I., Eshchenko O.V., Karas' A.Ya. Information role of instinct in the organization of purposeful behavior. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1995; 115(4):390-396 (in Russ.)].
12. Перцов С.С. Язвенные поражения желудка у крыс Август и Вистар при остром эмоциональном стрессе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1995; 120(11):469-470 [Pertsov S.S. Ulcerative lesions of the stomach in rats of August and Wistar with acute emotional stress. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1995; 120(11):469-470].
13. Розанов В.А. Стресс и психическое здоровье (нейробиологические аспекты). *Социальная и клиническая психиатрия*. 2013; 23(1):79-86 [Rozanov V.A. Stress and mental health (neurobiological aspects). *Sotsial'naya i klinicheskaya psixiatriya*. 2013; 23(1):79-86 (in Russ.)].
14. Сакович А.Р. Гематологические лейкоцитарные индексы при остром гнойном синусите. *Медицинский журнал*. 2012; 4(42):88-91 [Sakovich A.R. Haematological leucocytes indexes in cases of acute purulent sinusitis. *Meditinskiy zhurnal*. 2012; 4(42):88-91 (in Russ.)].
15. Самогтруева М.А., Сергалиева М.У., Ясенявская А.Л., Мажитова М.В., Теплый Д.Л., Кантемирова Б.И. Информационный стресс: причины, экспериментальные модели, влияние на организм. *Астраханский медицинский журнал*.

- 2015;10(4):25-30 [Samotrueva M.A., Sergaliyeva M.U., Yasenyavskaya A.L., Mazhitova M.V., Teplyu D.L., Kantemirova B.I. Information stress: causes, experimental models, influence on organism. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015;10(4):25-30 (in Russ.)]
16. Титов В.Н. Биологическая функция стресса, врожденный иммунитет, реакция воспаления и артериальная гипертензия. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008;12:3-16 [Titov V.N. Biological function of stress, innate immunity, in inflammatory reaction, and arterial hypertension. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2008;12:3-16 (in Russ.)]
 17. Федорова О.В., Краюшкина Н.Г., Шефер Е.Г. Пост-стрессовая модуляция органов иммуногенеза. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2010; 3(35):8-12 [Fedorova O.V., Kraiushkina N.G., Schefer E.G., Fokina E.N., Degtiar U.V., Demidovich I.L. Post-stress modulation of immunogenesis organs. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2010; 3(35):8-12 (in Russ.)]
 18. Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Ашмарин И.П. Пептидергическая регуляция гомеостаза. *Успехи современной биологии*. 2002;122(2):190-203 [Khavinson V.Kh., Kvetnoy I.M., Ashmarin I.P. Peptidergic regulation of homeostasis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2002;122(2):190-203 (in Russ.)]
 19. Хныченко Л.К., Сапронов Н.С. Стресс и его роль в развитии патологических процессов. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2003;2(3):2-15 [Khnychenko L.K., Saproнов N.S. Stress and its role in the development of pathological processes. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2003;2(3):2-15 (in Russ.)]
 20. Яценко К.А., Глазова Н.М., Иноземцева Л.И., Андреева Л.А., Каменский А.В., Гривенников И.А., Левицкая Н.А., Долотов О.В., Мясоедов Н.Ф. Гептапептид семакс ослабляет последствия непредсказуемого хронического стресса у крыс. *Доклады Академии наук*. 2013;453(5):581 [Yatsenko K.A., Glazova N.Y., Inozemtseva L.S., Andreeva L.A., Kamenskiy A.A., Grivennikov I.A., Levitskaya N.G., Dolotov O.V., Myasoedov N.F. Heptapeptide semax attenuates the effects of chronic unpredictable stress in rats. *Doklady Biological Sciences*. 2013;453(5):581-587]
 21. Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Myasoedov N.F., Kamenskiy A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Ryasina T.V. Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4-10-semax (the experience of design and investigation over 15 years). *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 1997;47(2):429-430 [Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Myasoedov N.F., Kamenskiy A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Ryasina T.V. Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4-10-semax (the experience of design and investigation over 15 years). *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 1997;47(2):429-30]
 22. Dolotov O.V., Andreeva L.A., Novosadova E.V., Myasoedov N.F., Grivennikov I.A., Eremin K.O., Raevskii K.S. Semax prevents the death of tyrosine hydroxylase-positive neurons in a mixed neuroglial cell culture derived from the embryonic rat mesencephalon in a model of 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Neurochemical Journal*. 2015;9(4):295-298. DOI: 10.1134/S1819712415040066
 23. Dolotov O.V., Karpenko E.A., Inozemtseva L.S., Seredenina T.S., Levitskaya N.G., Dubynina E.V., Novosadova E.V., Andreeva L.A. et al. Semax, an analog of ACTH(4-10) with cognitive effects, regulates BDNF and TRKB expression in the rat hippocampus. *Brain Res*. 2006;1117(1):54-60. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.108
 24. Eremin K.O., Kudrin V.S., Rayevsky K.S., Saransaari P., Oja S.S., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F., Rayevsky K.S. Semax, an ACTH(4-10) analogue with nootropic properties, activates dopaminergic and serotonergic brain systems in rodents. *Neurochemical Journal*. 2005;30(12):1493-1500. DOI: 10.1007/s11064-005-8826-8

Поступила в редакцию 13.03.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Стресс-протекторное и иммуномодулирующее действие Семакса в условиях экспериментального информационного стресса. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):57-65. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/06.

STRESS-PROTECTIVE AND IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF SEMAX UNDER EXPERIMENTAL INFORMATIONAL STRESS

© Yasenyavskaya A.L.¹, Samotrueva M.A.¹, Myasoedov N.F.², Andreeva L.A.²

¹ Astrakhan State Medical University (ASMU)

121, Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation

² Institute of Molecular Genetics of Russian Academy of Sciences (IMG RAS)

2, Academician I.V. Kurchatov sq., Moscow, 123182, Russian Federation

Objective: to study the stress-protective and immunomodulatory effects of Semax under conditions of informational stress.

Materials and methods. The study deals with stress-protective and immunocorrective effects of Semax (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) under conditions of experimental informational stress which was performed on white non-linear male rats. The formation of a stress reaction under the conditions of informational impact was confirmed by the presence of a stress triad, including adrenal hypertrophy, a decrease in the number of eosinophils in the peripheral blood and the presence of erosive-ulcerative lesions of the gastric mucosa. In addition, to assess the reactivity of the organism, the adaptation intensity index according to L.Kh. Garkavi was used as an indicator of the balance of the response of blood cells to the stress factor. Functional activity of the immune system of laboratory animals was assessed on the basis of standard immunopharmacological tests: delayed-type hypersensitivity reaction (DTH), direct agglutination test (DAT), latex test for studying the phagocytic activity of peripheral blood neutrophils, evaluation of changes in the leukocyte formula.

Results. It has been established that under conditions of information stress, changes in the immune response are multi-directional that confirms the theory of "immune imbalance" under the action of stress factors. As a result of studying the influence of Semax under conditions of informational stress, it was found that the drug manifested itself as an effective stress protector and immunocorrector, reducing stress-reactive manifestations, restoring cellular and humoral immunogenesis, as well as neutrophil phagocytic activity.

Conclusion. This study expands the scientific research base in the field of immune reaction under stress-induced conditions, with the aim of further developing a pharmacological strategy for correcting the revealed violations by means of substances of a neuropeptide structure.

Keywords: informational stress; Semax; delayed-type hypersensitivity (DTH) reactions; direct agglutination test (DAT); phagocytic index (PhI); phagocytic number (PhN).

Yasenyavskaya Anna L. – PhD in Medicine, Associate Professor of Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, ASMU, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: yasen_9@mail.ru (correspondence author)

Samotrueva Marina A. – DM, Associate Professor, Head of Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, ASMU, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5336-4455. E-mail: ms1506@mail.ru

Myasoedov Nikolai F. – Doctor in Chemistry, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Physiologically Active Substances Chemistry, IMG RAS, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

Andreeva Lyudmila A. – PhD in Chemistry, Head of Regulatory Peptides Sector of Department of Physiologically Active Substances Chemistry, IMG RAS, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study protocol was approved by the Ethics Committee of Astrakhan State Medical University (protocol No 8 of November 24, 2015).

Received 13.03.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Yasenyavskaya A.L., Samotrueva M.A., Myasoedov N.F., Andreeva L.A. Stress-protective and immunomodulatory effects of Semax under experimental informational stress. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):57-65. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/06.

ФТОРИДЫ: ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

© Иорданишвили А.К.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
(СЗГМУ им. И.И. Мечникова)

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (ВМедА им. С.М. Кирова)

Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

Международная академия наук экологии, безопасности человека и природы (МАНЭБ)

Россия, 199106, г. Санкт-Петербург, Большой пр., д. 74

Освещаются актуальные в современных условиях вопросы, связанные с потреблением населением России фторидов, включая индивидуальные средства ухода за полостью рта. Отмечается, что фториды имеют безусловное физиологическое значение для организма человека, его здоровья, в том числе стоматологического. Эффективность фтористых препаратов и их влияние на снижение кариеса зубов широко документирована в зарубежной и отечественной литературе и является неоспоримым фактом. Несмотря на то что нет общепринятого согласия на механизм действия фтора, нет сомнений в отношении его противокариозного действия. Наиболее интенсивное включение фторидов в состав твердых тканей зубов происходит во время их формирования и минерализации. По окончании роста и минерализации зубов эмаль и дентин зубов становятся менее проницаемыми для ионов фтора. Оптимальной ежедневный прием фторидов должен колебаться между 0,05 и 0,07 мг/кг массы тела. Общий прием фторидов не должен превышать 0,1 мг/кг массы в день, чтобы избежать появления флюороза зубов и костей. Даны рекомендации по использованию фторидосодержащих средств ухода за полостью рта. Отмечено, что проблема сохранения соматического и стоматологического здоровья у населения России, в том числе профилактики кариеса зуба, должна решаться в контексте климато-географических, экологических, медицинских и социальных аспектов, в решении которой фторидам должно отводиться не последнее место.

Ключевые слова: фториды, здоровье человека, гигиеническое значение фтора, безопасность применения фтора, фторид олова, монофторфосфат натрия, фторид натрия, фторид алюминия.

Иорданишвили Андрей Константинович – д.м.н., профессор кафедры ортопедической стоматологии, СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург; профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург; главный Ученый секретарь, МАНЭБ, г. Санкт-Петербург. E-mail: mdgrey@bk.ru

В настоящее время в отечественной и зарубежной литературе имеются сведения о распространенности фторидов в природе, содержании их и обмене в организме, роли фторидов как фактора заболеваемости флюорозом и снижения заболеваемости кариесом зубов [1, 2, 5]. Проблема влияния фторидов на организм и здоровье человека освещалась с середины до 90-х годов прошлого века в широком гигиеническом плане, применительно к задачам гигиены труда и гигиены питания, а также санитарной охраны атмосферного воздуха и источников водоснабжения [3, 4]. В нашей стране были проведены обширные исследования природных вод на фториды и очаги эндемического флюороза, а также многолетние санитарно-токсикологические исследования влияния фторидов на организм человека, что обобщено в конце прошлого века и по-началу находило практическое применение [3]. В настоящее время сохраняется актуальное отношение к фторидам применительно к задачам гигиены труда, гигиены питания, а также санитарной охраны окружающей среды, в том числе производственной, в отношении из-

быточного содержания фторидов, но снизилось внимание к фторидам в широком гигиеническом плане, особенно в связи с основной стоматологической патологией – кариесом зубов. Это происходит, не смотря на то, что 100 млн. человек в России сегодня пьют воду с недостаточным содержанием фтора и йода [22]. То есть, можно предположить, что каждые два из трех жителей нашей страны находятся в условиях недостаточного поступления фторидов. Во многих регионах России из-за недостаточного содержания в воде необходимых для здоровья микроэлементов (фтора) поражение кариесом зубов у детей достигает 90 – 100% [15]. Также следует отметить, что в современных условиях из более 2000 различных видов зубных паст, присутствующих на современном рынке в России, более 20% из них не содержат фтор [18]. Применение таких паст у детей, подростков и взрослых, при условии сниженного содержания фторидов или их полного отсутствия в питьевой воде оказывает крайне неблагоприятной действия не только на твердые ткани зубов, но и здоровье человека в целом [19]. Все это свиде-

тельствует о том, что назрела необходимость осветить основные исследования отечественных и зарубежных ученых, в которых изложено современное состояние вопроса о гигиеническом значении фтора применительно, не только к гигиенической науке и санитарной практике, но и к социальной и медицинской значимости этого вопроса.

Известно, что фториды имеют безусловное физиологическое значение для организма человека и его здоровья, в том числе стоматологического. Они придает своим соединениям особую стабильность и устойчивость. Для нормального развития зубов необходимо определенное равновесие в зубной лимфе между ионами фтора и магния. Если равновесие нарушено в сторону увеличения магния и уменьшения фтора, то фосфатаза, влияя на дентин и эмаль, способствует развитию кариеса. Фториды также способствует связыванию фосфорнокислого кальция, являясь биокатализатором. Кроме того, фториды ингибируют активность ферментов, кофакторами которых являются ионы марганца, кальция, железа и, особенно, магния, образуя с этими элементами фторметаллические соединения. При этом высокие концентрации фторидов оказывают тормозящее влияние на тканевое дыхание головного мозга и печени, а количества фторидов в питьевой воде 1,0-1,5 мг/л оказывает на тканевое дыхание стимулирующий эффект [24]. Также известно тормозящее действие фторидов на иммунобиологическую реактивность организма, в частности агглютинирующую активность сыворотки крови [24, 30].

Сегодня установлена среднесуточная физиологическая потребность во фторидах для взрослого человека, которая составляет 2-3 мг [2]. Считается, что 70% ее человек получает с питьевой водой и 30% – с пищей [4]. В то же время для фторидов характерен малый диапазон между биологически полезной (от 0,7 до 1,5 мг/л) и токсической дозами [5]. Избыточное или недостаточное содержание фторидов в питьевой воде по ее внешнему виду и органолептическим показателям (по запаху, привкусу, цвету) не обнаруживается [5].

Следует отметить, что из-за различной растворимости соединений фтора его особенно много содержат термальные минеральные воды [3], вулканические газы, которые особенно богаты фтористым водородом [3]. Метеорные и поверхностные воды не богаты фторидами, а колодезная и артезианская воды часто богаты фтором, в отличие от атмосферных осадков, где фтора мало, всего около 0,05 мг/л [5]. Также необходимо добавить, что все большее влияние на кругооборот фтора оказывает производственная деятельность человека, особенно по

переработке апатитов и фосфоритов [3, 4]. В настоящее время все минеральные элементы разделены на 3 группы по их отношению к кариесу, где фтор является элементом с выраженным противокариозным действием [32]. При этом участие фтора в биологических процессах зависит от климато-географических условий. Приняты расчетные концентрации фторидов в питьевой воде при различных температурах воздуха: при средней максимальной температуре 10 – 14°C расчетная концентрация фторидов в питьевой воде должна быть 1,2 мг/л, а при средней максимальной температуре 28 – 32°C расчетная концентрация фторидов в питьевой воде должна быть – 0,7 мг/л [23]. Однако, несмотря на знание физиологической роль фторидов, эти знания в полном объеме не используются в здравоохранении, в том числе и за рубежом [8, 20, 36, 38].

Несмотря на то что нет общепринятого согласия на механизм действия фтора, нет сомнений в отношении его противокариозного действия [7, 34]. Наиболее интенсивное включение фторидов в состав твердых тканей зубов, происходит во время их формирования и минерализации. По окончании роста и минерализации зубов эмаль и дентин зубов становятся менее проницаемыми для ионов фтора, но необходимость в них не исчезает [6, 28, 31, 37].

Ранее нами на основании стоматологического обследования 982 подростков (464 мужчины и 518 женщин) в возрасте 14-15 лет, постоянно проживающих в Москве, Санкт-Петербурге, Курске и их пригородах, с учетом места их проживания (мегаполис, районный центр, сельская местность) изучены распространенность и интенсивность течения кариеса зубов, а также степень активности течения кариеса и уровень индивидуальной гигиены полости рта у подростков мегаполиса и пригородов в современной России и показано, что у подростков, проживающих в мегаполисе и его пригородах, в том числе сельской местности, отмечается высокая распространенность течения кариеса зубов, которая составляет 91,6-97,6%, а также большее число подростков с декомпенсированным течением кариозного процесса при сниженном уровне индивидуальной гигиены полости рта ($2,47 \pm 0,17$ у.е.). Мы считаем, что это обусловлено малой информированностью подростков и их родителей по вопросам индивидуального ухода за полостью рта, особенно в сельской местности, а также меньшей доступностью стоматологической помощи на селе в связи с удаленностью стоматологических лечебно-профилактических учреждений от мест проживания подростков. Согласно нашим данным показатель КПУ составил у жителей мегаполиса, районного центра и

сельской местности соответственно $4,35 \pm 0,21$; $4,71 \pm 0,26$ и $6,78 \pm 0,31$ пораженных кариесом зубов на одного подростка. При этом половых различий в интенсивности течения кариозного процесса у подростков мегаполиса, его районных центров и подростков, проживающих в сельской местности, нами установлено не было. Это подтверждает слова специалистов, свидетельствующих, что данный кариес зубов, как социально значимый процесс, имеет характер «почти эпидемического распространения» [16]. Такая высокая пораженность зубов подростков приводит к высокой нуждаемости их в лечении кариеса и его осложнений, особенно у лиц призывного возраста, а также у военнослужащих срочной службы [9, 17]. Причем подчеркивается, что пораженность кариесом зубов рядового состава Российской армии и флота в XXI веке не имеет тенденции к снижению [9, 11].

Впервые фторирование централизованно подаваемой питьевой воды было осуществлено в Соединенных Штатах Америки (США) в 1945 г., а через 25 лет Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендовала всем странам повсеместно внедрять фторирование, призывая всех членов ВОЗ предусматривать фторирование воды в национальных программах здоровья [18]. Наиболее успешно эти предложения реализовывались в США, где уже в 90-х годах XX столетия централизованное фторирование было организовано в 42 крупных городах [27]. В результате более 72% населения США стали получать фторированную питьевую воду [33].

Наши исследования показали, что в настоящее время в организации фторирования питьевой воды, подаваемой населению централизованно, существует неблагоприятная тенденция. Например, в Ленинградской области в г. Зеленогорске питьевая вода забирается из реки Кан, где содержание фтора $0,008$ мг/л, а также из подземных вод, где этот показатель доходит до $0,35$ мг/л, что значительно лучше, но при смешивании этих вод на водоканале питьевая вода «на выходе» содержит фторидов до $0,012$ мг/л.

Если в 80-х годах XX века фторирование воды осуществлялось более чем в 60 городах СССР, то в начале XXI века технология внедряется преимущественно в небольших населенных пунктах, например, в г. Гвардейске Калининградской области [26]. В мегаполисах (Москва, Санкт-Петербург) руководство водной отрасли (предприятий «Водоканал») считают фторирование воды нецелесообразным, так как на питьевые нужды идет очень незначительная часть водопроводной воды, менее 10% [14]. При этом в России редко можно увидеть в магазинах молоко и соль, содержащие фториды [10]. Про-

граммы профилактики кариеса зубов с использованием фторидов разработаны, но применяются редко, причем от случая к случаю в отдельных дошкольных или школьных учреждениях, и то, как правило, при проведении диссертационных исследований [12]. В то же время в Соединенных Штатах Америки усилия, направленные на рациональное использование фторидов и улучшение индивидуальной гигиены полости рта, привели к значительному снижению кариеса зубов – до 65%, где около 30% детей вырастают, практически не имея кариозных поражений зубов вообще, а большая часть – очень незначительное количество [35]. Так, фторирование питьевой воды приводит к снижению кариеса на 50-60%; фторирование питьевой воды в школах – на 40%; использование внутриротовых системных фтористых добавок – на 50-65%; использование фторидов в составе зубных порошков и паст – на 20-30%; профессионально применяемые аппликации фторидов – на 30-40%; самостоятельные аппликации фтора, выполняемые пациентами в домашних условиях, – на 20-50% [35]. Из-за недостатка фторидов в питьевой воде большая ставка делалась на чай, как на их источник [11]. Доказано, что байховые и кирпичные сорта чая реально являются источниками фторидов. Однако нет исследований, показывающих зависимость встречаемости и интенсивности кариеса зубов от выпитых кружек чая, особенно с учетом возраста.

Сегодня доказано, что фториды могут быть важным фактором в возникновении заболеваний человека (острые и хронические отравления фтором, хронический профессиональный флюороз, эндемический флюороз) [3], доказана их незаменимая роль в снижении заболеваемости кариесом зубов, особенно у детей и подростков [2, 25].

В настоящее время острые и хронические отравления фторидами практически не встречаются, а хронический флюороз выявляется у населения окрестностей заводов, в выбросах которых содержатся фториды [3]. Соблюдение технологии производства и правил техники безопасности на предприятиях на территории суперфосфатных и алюминиевых заводов исключает или резко снижает возможность попадания в верхние дыхательные пути и пищеварительный тракт фторсодержащей пыли [3]. Однако загрязнение воздушной среды таких заводов может приводить к тому, что в организм работающих на предприятии поступает подчас больше фторидов, чем с водой в эндемичных по флюорозу населенных пунктах, а следовательно, приводит к явлениям хронического флюороза, характеризующегося специфическими измене-

ниями в костях и связочном аппарате, а не только зубах [3, 18].

В настоящее время на основании анализа результатов исследований сделаны выводы, что у лиц, проживающих в районах с оптимальной (1 мг/л) и умеренно повышенной (2 мг/л) концентрацией фторидов в питьевой воде, не обнаруживаются существенные и стабильные отклонения в росте и развитии скелета. Концентрация фторидов в воде, приводящая к выраженному остеосклерозу, как правило, находится в пределах 5-13 мг/л при условии проживания в эндемическом районе не менее 10-15 лет [18]. Поэтому крайне важно использовать фториды для профилактики кариеса зубов.

В нашей стране до сих пор существует дефицит информации об экономической эффективности профилактических мероприятий фторидпрофилактики кариеса зубов. Однако в США еще в 70-80-е годы XX века были выполнены расчеты, показавшие, что выгода от фторирования питьевой воды в расчете на 1 человека в год составляет 1-2 доллара, а в крупных городах – 10-20 центов. Учитывая расходы, связанные с лечением одного пораженного кариесом зуба, экономический эффект по соотношению расходов на фторирование и затрат на лечение достигал 1:100. В крупных городах, где стоимость фторирования меньше (10-20 центов на 1 чел. в год), этот показатель был на порядок выше [5].

Сегодня в России имеются достоверные результаты клинической оценки кариеспрофилактической эффективности фторсодержащих препаратов при различных методах и частоте их использования. Доказана экономическая эффективность профилактики кариеса препаратами, содержащими фториды: фтор-лак, витафтор, фторсодержащие таблетки [2, 6, 18, 39].

Особый прикладной интерес представляют предварительные расчеты, выполненные в системе Министерства обороны (МО) РФ в 2012 г., которые показали, что в РФ на лечение одного случая кариеса зубов за счет средств обязательного медицинского страхования (ОМС) необходимо в среднем 500-600 руб. [21]. В условиях распространенности заболевания интенсивность кариеса в 2000-2010 гг. составила 7,7 зуба, а на лечение кариеса зуба у одного человека необходимо около 4,2 тыс. рублей [21]. В расчете на 250000 молодых людей, призываемых в течение года на военную службу, на эти цели должно быть предусмотрено около 1 млрд руб. В федеральной целевой программе «Чистая вода» на 2011 – 2017 гг. для обеспечения населения «доброкачественной» питьевой водой планировалось осуществить финансирование в объеме 331,8 млрд руб. При расчете на одного жителя страны ежегодные затраты составили бы около

300 руб. Данная сумма предполагала затраты на улучшение качества воды в целом, то есть по всем показателям, исключая фторирование. В результате соотношение суммарных профилактических мер с затратами на лечение кариеса зубов составило бы 1:14 [21].

Поэтому в системе МО РФ затраты на фторидпрофилактику целесообразно рассматривать на примере использования индивидуальных средств ухода за полостью рта, содержащих фториды: зубные пасты и ополаскиватели для рта. Так, 30-граммовой тубы зубной пасты и 350 мл емкости ополаскивателя для полости рта, содержащих фториды, достаточно для использования одним человеком в течение месяца. Расходы на одного человека в год, исходя из применения 1 г зубной пасты и 20 мл ополаскивателя для рта в день, составят в среднем 2500 руб. в год, что также с экономической точки зрения можно оценить как один из достаточно эффективных способов решения проблемы.

Говоря об экономической целесообразности фторирования питьевой воды, необходимо рассмотреть вопрос о наличии фтораторных установок в крупных жилых комплексах мегаполисов, где в каждой квартире будет три крана воды: горячая, холодная и холодная питьевая. Причем, питьевая вода может быть фторированной. При этом себестоимость такой воды, прошедшей через фильтр и фтораторную установку, составил 10 – 15 копеек за литр, в отличие от питьевой воды, прошедшей только через фильтры, стоимость которой на сегодняшний день составляет 4 – 5 копеек за литр. Окупаемость необходимой техники и ее обслуживания, с учетом персонала, составит не более 5 – 7 лет.

Фторидсодержащие средства для ухода за полостью рта используются более полувека и в настоящее время признаны самым массовым средством профилактики кариеса зубов у детей и взрослых как в России, так и за рубежом [16, 18, 27]. Наиболее часто среди фторидов в средствах для ухода за полостью рта используются фторид олова, монофторфосфат натрия, фторид натрия, аминоксиды, фторид алюминия как компоненты, входящие в состав зубных паст или ополаскивателей для рта [13, 18].

Резюмируя вышеизложенное, следует заключить, что в подавляющем большинстве населенных пунктов Российской Федерации содержание фторидов в питьевой воде очень низкое – менее 0,3 мг/л, в большинстве пищевых продуктов фториды содержатся в десятых долях миллиграмма на 1 кг массы и практически не осуществляется фторирование молока и соли. Централизованно профилактика кариеса зубов у детей и школьников в стране не осуществляется, прием таблеток фторида натрия, покрытие зу-

бов фтор-лаком, аппликации фтор-гелем, а также полоскания и аппликации фторсодержащими растворами осуществляются либо индивидуально, либо в ограниченных коллективах детей, подростков и молодых людей, обычно при проведении научно-исследовательских работ. Поэтому для совершенствования общеоздоровительных и профилактических стоматологических лечебно-профилактических мероприятий в реальных условиях повседневной жизни целесообразно врачам разных специальностей:

- знать концентрацию фторидов в питьевой воде и в районах с низким и оптимальным их содержанием использовать местные фторсодержащие средства;

- рекомендовать фториды к ежедневному применению в малых концентрациях, например, детям с 2-летнего возраста осуществлять чистку зубов дважды в день фторсодержащей зубной пастой продолжительностью не менее 3 минут; детям до 6 лет при однократной чистке зубов использовать не более горошины зубной пасты, которая обычно будет содержать 500 ppm фторидов;

- зубные пасты с концентрацией фторидов от 500 до 5000 ppm назначать в зависимости от уровня риска развития кариеса зубов;

- ополаскиватели с концентрацией фторидов 0,025-0,05% рекомендовать использовать детям с 6 лет и взрослым дважды в день после чистки зубов в течение 1 минуты;

- пациентам с высоким риском развития кариеса периодически (от 2 до 6 раз в год) осуществлять аппликации средствами для профессионального применения с высокой концентрацией фторидов;

- для пролонгирования эффекта местных фторсодержащих средств рекомендовать пациентам воздерживаться от приема пищи и напитков в течение часа после их применения.

В заключение также следует сказать, что рекламным акциям, направленным на более широкое применение населением России средств индивидуальной гигиены полости рта, содержащих фториды, в настоящее время характерна недостаточная убедительность и последовательность. В связи с этим существуют проблемы в готовности и понимании различными категориями населения важности ежедневного применения средств ухода за полостью рта, содержащих фториды. В связи с этим обстоятельством в организованных и неорганизованных коллективах фторсодержащие зубные пасты и ополаскиватели для рта применяются эпизодически. Это ситуация в стране требует немедленной коррекции.

Таким образом, проблема сохранения соматического и стоматологического здоровья у населения России, в том числе профилактики кариеса зуба, должна решаться в контексте климато-географических, экологических, медицинских и социальных аспектов, при этом фторидам должно отводиться важное место.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Автор заявляет об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Боровский Е.В. *Кариес зуба*. Москва: ММСИ, 1972. 30 с. [Borovskiy E.V. *Caries of tooth*. Moscow: MMSI, 1972. 30 p. (in Russ.)]
2. Виноградова Т.Ф. *Педиатру о стоматологических заболеваниях у детей*. Ленинград: Медицина, 1982. 160 с. [Vinogradova T.F. *For pediatrician about dental diseases in children*. Leningrad: Meditsina, 1982. 160 p. (in Russ.)]
3. Габович Р.Д. *Фтор и его гигиеническое значение*. Москва: Медгиз, 1957. 252 с. [Gabovich R.D. *Fluorine and its hygienic value*. Moscow: Medgiz, 1957. 252 p. (in Russ.)]
4. Габович Р.Д., Минх А.А. *Гигиенические проблемы фторирования питьевой воды*. Москва: Медицина, 1979. 179 с. [Gabovich R.D., Minkh A.A. *Hygienic problems of fluoridation of drinking water*. Moscow: Meditsina, 1979. 179 p. (in Russ.)]
5. Габович Р.Д. *Фторирование воды*. В: *Большая медицинская энциклопедия*. Под ред. Б.В. Петровского. Москва: Советская энциклопедия, 1985. Том 26. С. 560. [Gabovich R.D. *Fluoridation of water*. In: *Great medical encyclopedia*. Petrovkiy B.V., editor. Moscow: Sovetskaya entsiklopediya, 1985. Vol. 26. P. 560. (in Russ.)]
6. Жидких В.Д. Результаты местной профилактики кариеса зубов у школьников. *Стоматология*. 1984;63(6):9-10 [Zhidkikh V.D. Results of local prevention of dental caries in schoolchildren. *Stomatologiya*. 1984;63(6):9-10 (in Russ.)]
7. Иорданишвили А.К., Ковалевский А.М. *Стоматологические заболевания у подростков*. В: *Подростковая медицина: руководство для врачей*. Под ред. Л.И. Левиной, А.М. Куликова. Санкт-Петербург: Питер, 2004. С. 462-475. [Iordanishvili A.K., Kovalevskiy A.M. *Dental diseases in adolescents*. In: *Adolescent medicine: a guide for physicians*. Levina L.I., Kulikov A.M., editors. Saint-Petersburg: Piter, 2004. P. 462-475 (in Russ.)]
8. Иорданишвили А.К. *Клиническая ортопедическая стоматология*. Москва: МедПресс, 2008. 208 с. [Иорданишвили А.К. *Clinical orthopaedic dentistry*. Moscow: MedPress, 2008. 208 p. (in Russ.)]
9. Иорданишвили А.К., Солдаткина А.С. *Стоматологические заболевания у лиц призывного воз-*

- раста. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2015;4(52):106-110 [Jordanishvili A.K., Soldatkina A.S., Serikov A.A. Dental diseases in people of recruit age. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoj akademii*. 2015;4(52):106-110 (in Russ.)]
10. Иорданишвили А.К., Солдаткина А.С. Заболевания органов и тканей полости рта у лиц молодого возраста. *Институт стоматологии*. 2015;3(68):38-40. [Jordanishvili A.K., Soldatkina A.S. Diseases of mouth organs and tissues in young person. *Institut stomatologii*. 2015;3(68):38-40 (in Russ.)]
 11. Иорданишвили А.К. *Возрастные изменения жевательно-речевого аппарата*. Санкт-Петербург: Издательство «Человек», 2015. 140 с. [Jordanishvili A.K. *Age-related changes in the masticatory-speech apparatus*. St. Petersburg: Publisher "Chelovek", 2015. 140 p. (in Russ.)]
 12. Иорданишвили А.К., Пихур О.Л. Кристаллохимические аспекты в этиопатогенезе повышенной чувствительности зубов. *Экология и развитие общества*. 2017;4(23): 39-47 [Jordanishvili A.K., Pikhur O.L. Crystal chemical aspects in etiopathogenesis of hypersensitivity of teeth. *Ekologiya i razvitiye obshchestva*. 2017;4(23): 39-47 (in Russ.)]
 13. Иорданишвили А.К., Музыкин М.И., Васильев С.В. Фторид олова в профилактике и лечении повышенной чувствительности зубов. *Экология и развитие общества*. 2018;2(25):42-45 [Jordanishvili A.K., Muzykin M.I., Vasil'yev S.V. Tin fluoride in the prevention and treatment of hypersensitivity of teeth. *Ekologiya i razvitiye obshchestva*. 2018;2(25):42-45 (in Russ.)]
 14. Кармазинов Ф.В. *Водоснабжение Санкт-Петербурга*. Санкт-Петербург: Новый журнал, 2003. 687 с. [Karmazinov F.V. *Water supply of Saint-Petersburg*. Saint-Petersburg: Novyy zhurnal, 2003. 687 p. (in Russ.)]
 15. Кодола Н.А., Коваленко А.И. Кариес зуба и содержание фтора в питьевой воде. *Стоматология*. 1977;56(3): 65-69 [Kodola N.A., Kovalenko A.I. Tooth decay and fluoride content in drinking water. *Stomatologiya*. 1977;56(3):65-69 (in Russ.)]
 16. Кузьмина Э.М., Смирнова Т.А. *Фториды в клинической стоматологии*. Москва: ММСИ, 2001. 32 с. [Kuz'mina E.M., Smirnova T.A. *Fluorides in clinical dentistry*. Moscow: MMSI, 2001. 32 p. (in Russ.)]
 17. Кузьмина Э.М., Янушевич О.О. *Профилактическая стоматология*. Москва: Практическая медицина, 2016. 543 с. [Kuz'mina E.M., Yanushevich O.O. *Preventive dentistry*. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2016. 543 p. (in Russ.)]
 18. Кузьмина Э.М., Кузьмина И.Н., Лапатина А.В. *Фториды в стоматологической практике: механизм действия, эффективность и безопасность применения*. Москва: МГМСУ, 2018. 40 с. [Kuz'mina E.M., Kuz'mina I.N., Lapatina A.V. *Fluorides in dental practice: mechanism of action, efficacy and safety of use*. Moscow: MSMSU, 2018. 40 p. (in Russ.)]
 19. Леонтьев В.К. Вопросы профилактики и лечения кариеса зубов и проблема реминерализации. *Стоматология*. 1977;56(2):89-92 [Leont'yev V.K. Issues of prevention and treatment of dental caries and the problem of remineralization. *Stomatologiya*. 1977;56(2):89-92 (in Russ.)]
 20. Лопатин С.А., Мазуров В.И. Об участии санитарно-эпидемиологических учреждений Министерства обороны РФ в динамическом наблюдении за здоровьем военнослужащих. *Военно-медицинский журнал*. 1993;314(3):41-44 [Lopatin S.A., Mazurov V.I. About participation of sanitary and epidemiologic establishments of the Ministry of defence of the Russian Federation in dynamic supervision of health of the military personnel. *Voenno-meditsinskiy zhurnal*. 1993;314(3):41-44 (in Russ.)]
 21. Малых А.Б., Гребнев Г.А., Буценко С.А., Пастухлов А.Г. Оказание зубопротезной помощи пенсионерам Министерства обороны в медицинских организациях государственной и муниципальной систем здравоохранения. *Военно-медицинский журнал*. 2012;333(4):4-13 [Malykh A.B., Grebnev G.A., Butsenko S.A., Pastukhlov A.G. Provision of dental prosthesis assistance to pensioners of the Ministry of defense in medical organizations of the state and municipal health systems. *Voenno-meditsinskiy zhurnal*. 2012;333(4):4-13 (in Russ.)]
 22. Онищенко Г.Г., Рахманин Ю.А., Кармазинов Ф.В. *Бенчмаркинг качества питьевой воды*. Санкт-Петербург: Новый журнал, 2010. 432 с. [Onishchenko G.G., Rakhmanin Yu.A., Karmazinov F.V. *Benchmarking of drinking water quality*. Saint-Petersburg: Novyy zhurnal, 2010. 432 p. (in Russ.)]
 23. Пахомов Г.Н. *Первичная профилактика в стоматологии*. Москва: Медицина, 1982. 240 с. [Pakhomov G.N. *Primary prevention in dentistry*. Moscow: Meditsina, 1982. 240 p. (in Russ.)]
 24. Пихур О.Л. *Возрастные изменения состава и строения твердых тканей зуба*. Санкт-Петербург: Нордмедиздат, 2015. 154 с. [Pikhur O.L. *Age-related changes in the composition and structure of hard tooth tissues*. Saint-Petersburg: Nordmedizdat, 2015. 154 p. (in Russ.)]
 25. Сунцов В.Г., Леонтьев В.К., Дистель В.А., Вагнер В.Д. *Стоматологическая профилактика у детей*. Москва: Медицинская книга; Нижний Новгород: НГМА, 2001. 344 с. [Suntsov V.G., Leont'yev V.K., Distel' V.A., Vagner V.D. *Dental prevention in children*. Moscow: Meditsinskaya kniga; Nizhny Novgorod: NSMA, 2001. 344 p. (in Russ.)]
 26. Телевяк Н.Р. В г. Гвардейске Калининградской области введена в строй станция обезжелезивания воды. *Вода magazine*. 2012;6(58):4-5. [Televyak N.R. In the town of Gvardeysk, Kaliningrad region put into operation the station of deferrization of water. *Voda magazine*. 2012;6(58):4-5 (in Russ.)]
 27. Addy M. Dentine hypersensitivity: New perspectives on an old problem. *Int. Dent. J.* 2002;52:367-375. DOI: 10.1002/j.1875-595X.2002.tb00936.x
 28. Do L.G., Spencer A.J. Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *J. Dental Res.* 2007;86(8):723-728. DOI: 10.1177/154405910708600807.
 29. Elliott J.C. Calcium Phosphate Biominerals. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 2002;48:427-452. DOI: 10.2138/rmg.2002.48.11

30. He T., Barker M.L., Goyal C.R., Biesbrock A.R. Anti-gingivitis effects of a novel 0.454% stabilized stannous fluoride dentifrice relative to a positive control. *Amer. J. Dent.* 2012;25:136-140.
31. Marinho V.C. Evidence-based effectiveness of topical fluorides. *Adv. Dent. Res.* 2008;20(1):3-7. DOI: 10.1177/154407370802000102
32. Navia J.M. Prevention of dental caries with agents which increase tooth resistance to dental caries. *Int. Dent. J.* 1972;22:427-440.
33. Palmer C.A., Gilbert J.A. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: the impact of fluoride on health. *J. Acad. Nutr. Diet.* 2012;112(9): 1443-1453. DOI: 10.1016/j.jand.2012.07.012.
34. Siqueira J.F., Rocas I.N. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral. Surg., Oral. Med., Oral. Pathol., Oral. Radiol., Endod.* 2009;107:870-878. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.01.044
35. Stephen K.W. Fluoride toothpastes, rinses and tablets. *Adv. Dent. Res.* 1994;8(2):185-189. DOI: 10.1177/08959374940080020901
36. Tinanoff N. Progress regarding the use of stannous fluoride in clinical dentistry. *J. Clin. Dent.* 1995; 6:37-40.
37. Walker M. The pathogenesis and treatment of endoperiolesions. *Pathogenesis.* 2001;2(3):91-95.
38. Yamazaki H., Margolis H.C. Enhanced enamel remineralization under acidic conditions in vitro. *J. Dental Res.* 2008;87(6):569-574. DOI: 10.1177/154405910808700612
39. Zehnder M., Gold S.I., Hasselgren G. Pathologic interaction in pulpal and periodontal tissues. *J. Clin. Periodontol.* 2002;29(8):663-671. DOI: 10.1034/j.1600-051x.2002.290801.x

Поступила в редакцию 22.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Иорданишвили А.К. Фториды: их значение для здоровья человека в современных условиях и перспективы использования. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2019;(2):66-73. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/07.

FLUORIDES: THEIR VALUE FOR HUMAN HEALTH IN MODERN CONDITIONS AND PROSPECTS FOR THEIR USE

© Iordanishvili A.K.

**North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
(NWSMU named after I.I. Mechnikov)**

41, Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation

S.M. Kirov Military Medical Academy (VMedA)

6, Ac. Lebedev St., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

International Academy of Ecology, Man and Nature Protection Sciences (IAEMNPS)

74, Bolshoy Av., Saint Petersburg, 199106, Russian Federation

The article highlights the current issues in modern conditions which are associated with the consumption of fluoride by the population of Russia, including individual oral care products. It is noted that fluorides have unconditional physiological significance for the human body, its health, including dental. The effectiveness of fluoride drugs and their effect on the reduction of dental caries is widely documented in foreign and domestic literature and thus it is an indisputable fact. Despite the fact that there is no generally accepted agreement on the mechanism of fluorine action, there is no doubt in its anti-carious action. The most intensive inclusion of fluorides in the composition of the hard tissues of teeth occurs during their formation and mineralization. At the end of teeth growth and mineralization, the enamel and dentin become less permeable to fluoride ions. The optimal daily intake of fluoride should range between 0.05 and 0.07 mg / kg body weight. Total fluoride intake should not exceed 0.1 mg / kg of body weight per day in order to avoid the appearance of dental and bony fluorosis. Recommendations on the use of fluoride-containing oral care products are given. It was noted that the problem of preserving the somatic and dental health of the population of Russia, including the prevention of dental caries, should be addressed in the context of climate-geographical, environmental, medical and social aspects, in the solution of which fluorides should play a significant role.

Key words: fluorides, human health, hygienic value of fluorine, safety of fluoride, tin fluoride, sodium monofluorophosphate, sodium fluoride, aluminum fluoride.

Iordanishvili Andrey K. – DM, Professor of Department of Prosthetic Dentistry, NWSMU named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg; Professor of Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, VMedA, Saint Petersburg; Chief Scientific Secretary, IAEMNPS, Saint Petersburg. E-mail: mdgrey@bk.ru

CONFLICT OF INTEREST

The author declares the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The author states that there is no funding for the study.

Received 22.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Jordanishvili A.K. Fluorides: their value for human health in modern conditions and prospects for their use. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):66-73. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/07.

КИНЕТИКА ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА КРОВИ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

© Чулкова А.С.¹, Бондаренко Е.Т.¹, Ильин М.В.^{1,2}¹ Ярославская областная клиническая больница (ЯОКБ)

Россия, 150062, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Яковлевская, д. 7

² Ярославский государственный медицинский университет (ЯГМУ)

Россия, 150000, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

Цель исследования – изучение кинетики поглощения кислорода у больных атеросклерозом с преимущественным поражением различных сосудистых бассейнов.

Материалы и методы. Обследованы 47 больных атеросклерозом, в том числе 25 пациентов с преимущественным поражением брахиоцефальных артерий и 22 пациента с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. Диагноз атеросклероза устанавливался на основании ультразвукового дуплексного сканирования и подтверждался данными ангиографии. Кинетику индуцированного потребления кислорода в плазме крови изучали с помощью биологического кислородного монитора. В качестве инициатора свободных радикалов использовался 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (ААРН).

Результаты. В группах больных атеросклерозом с преимущественным поражением брахиоцефальных и периферических артерий отмечено увеличение скорости окисления крови, повышение показателей поглощения кислорода за 1 минуту, скорости поглощения кислорода на 30 и 40 минутах, а также снижение времени полупоглощения кислорода в сравнении с показателями группы контроля. Повышение показателя поглощения кислорода у больных атеросклерозом, выявлявшееся на 30 минуте исследования, свидетельствовало о более высоком исходном уровне перекисного окисления липидов, повышении концентрации продуктов перекисаации и быстрое истощение антиоксидантной системы, по сравнению с группой контроля, с некоторым снижением потребления кислорода к 40 минуте, соответствовавшем кинетике спада образования радикалов липидов.

Заключение. В связи с системностью атеросклеротического процесса у больных атеросклерозом, вне зависимости от преимущественной локализации атеросклеротического поражения, наблюдается повышение показателей поглощения кислорода крови, свидетельствующее либо о высокой реактогенности субстрата окисления, либо о недостаточной эффективности работы системы антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: атеросклероз, поглощение кислорода, система антиоксидантной защиты.

Чулкова Анна Сергеевна – врач-кардиолог, ЯОКБ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0003-3241-4374. E-mail: anninwonder@gmail.com (автор, ответственный за переписку)

Бондаренко Елена Тимофеевна – врач клинической лабораторной диагностики, ЯОКБ, г. Ярославль. ORCID iD: 0000-0003-3230-2145. E-mail: bondarenko-et@yandex.ru

Ильин Михаил Витальевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой терапии имени профессора Е.Н. Дормидонтова, ЯГМУ. ORCID iD: 0000-0001-6278-374X. E-mail: dekanat-2011@mail.ru

Атеросклероз является основной причиной сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности, сложным и многофакторным заболеванием, связанным с генотипом и факторами окружающей среды [2, 11]. Окисление липидов и воспалительный компонент играют важную роль в патогенезе атеросклероза. Различные метаболиты, будучи индикаторами патологических состояний, могут быть использованы в качестве показателей предрасположенности к заболеванию, факторов прогноза и критериев выздоровления [3].

Существует достаточно доказательств того, что гиперхолестеринемия, связанная с генетическими аномалиями либо увеличенным потреблением пищевых липидов, является одним из основных участников атерогенеза [4, 6]. При этом следует отметить, что поведение динамичных и сложных биологических систем трудно предсказать из-за свойств их отдельных частей, а метаболические нарушения остаются ключе-

вым фактором как в инициации, так и в прогрессировании атеросклероза [7].

Процесс атерогенеза тесно связан с окислительным стрессом, ключевым моментом которого является окисление ЛПНП, причем не только их липидной, но и белковой части [5, 9]. Липопротеиды низкой и очень низкой плотности осуществляют перенос гидропероксидов липидов к периферическим тканям. Результатом такого переноса атерогенных липоперекисей могут быть специфические, связанные с развитием атеросклероза, эффекты. Напротив, ЛПВП в ответ на окислительный стресс усиливают обратный захват пероксидов липидов из тканей [1].

Кровь, будучи основным носителем малых молекул в организме, играет не только ключевую роль в транспортировке растворенных газов, питательных веществ, гормонов и продуктов обмена, но также в поддержании рН и ионного состава интерстициальной жидкости, защите против токсинов и патогенов [10]. Основ-

ное клиническое значение приобретает тот факт, что любое повреждение ткани, дисфункция органа или патологическое состояние может влиять на химический и белковый состав плазмы крови, что находит отражение в изменении интенсивности кислородзависимых реакций.

Целью исследования стало изучение кинетики поглощения кислорода у больных атеросклерозом с преимущественным поражением различных сосудистых бассейнов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 47 больных атеросклерозом, в том числе 25 пациентов с преимущественным поражением экстракраниальных артерий и 22 пациента с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. В группу наблюдения вошли 26 (55%) мужчин и 21 (45%) женщина в возрасте $58,2 \pm 6,4$ года. Контрольную группу составили 25 относительно здоровых доноров, из них 10 (40%) мужчин и 15 (60%) женщин, в возрасте от 41 до 59 лет (в среднем $48,7 \pm 5,0$ лет).

Распределение больных по группам осуществлялось методом репрезентативного подбора по длительности и тяжести течения заболевания, анатомо-морфологическим особенностям атеросклеротической бляшки, возрастному и половому признакам, а также наличию факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Диагноз атеросклероза устанавливался на основании ультразвукового дуплексного сканирования и подтверждался данными ангиографии.

Для изучения кинетики индуцированного потребления кислорода в плазме крови пациентов с атеросклерозом различных сосудистых бассейнов использовался биологический кислородный монитор YSI модель 5300A (Yellow Springs Instrument Company, YSI Inc., США). В качестве инициаторов свободных радикалов применяли 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (AAPH).

Забор крови для исследования проводили после 10-часового голодания. 9,0 мл крови из локтевой вены вносили в вакуумный пластиковый контейнер, содержащий этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) в концентрации 1 мг/мл. Плазму получали путем центрифугирования в течение 15 минут при 1500 g и использовали для исследования в течение трех часов.

Для приготовления инициатора окисления AAPH использовался фосфатный буферный раствор, в состав которого входили 50 mM растворы NaH_2PO_4 и Na_2HPO_4 (pH 7,2-7,4). Очистка исход-

ных растворов от примесей тяжелых металлов осуществляется с использованием сорбента Chelex 100 (Bio-Rad).

Для проведения исследования кюветы прибора заполнялись смесью плазмы и фосфатного буфера в пропорции 1:5. Общий объем растворов во всех пробах соответствовал 3 мл. Концентрация растворенного кислорода в присутствии инициатора (AAPH 10 mM) измерялась в течение 40 минут в термостатированной ячейке измерительной камеры при постоянном перемешивании.

При окислении плазмы в присутствии инициатора азотных радикалов AAPH поглощение кислорода происходит с постоянной скоростью, которая в десятки раз превышает скорость иницирования радикалов, что указывает на радикально-цепной механизм окисления.

По наклону кривой концентрации кислорода в пробе определялся процент поглощения кислорода за 1 минуту (C1), рассчитывалось количество поглощенного кислорода во временные промежутки с 20 по 30 (C30) и с 30 по 40 минуту (C40), время полупоглощения кислорода в образце (T1/2).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Выполнялась подготовка и проверка первичных данных, устранялись артефакты и технические дефекты. Осуществлялась проверка нормальности распределения количественных признаков с использованием критериев Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса и Шапиро-Уилка.

В связи с тем, что абсолютное большинство исследованных признаков имело распределение отличное от нормального, производилось вычисление медиан и интерквартильных интервалов. Интерквартильный размах указывался в виде 25 и 75 перцентилей. Приводимые данные имеют представление Me (25%; 75%).

Для сравнения двух независимых групп по одному признаку применяли U-критерий Манна-Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования поглощения кислорода у больных с поражением брахиоцефальных артерий (БЦА) представлены в таблице 1.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о статистически значимом различии всех определяемых показателей поглощения кислорода у пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных артерий в сравнении с группой контроля.

Показатели поглощения кислорода
у больных атеросклерозом с преимущественным поражением брахиоцефальных артерий
The parameters of oxygen consumption in patients with brachiocephalic arteries atherosclerosis

Показатель Parameter	Группа контроля (n=25) Control group	Атеросклероз БЦА (n=25) Brachiocephalic arteries atherosclerosis group
Скорость окисления крови (R_{ox}), ммоль/л·с Blood oxidation rate, mmol/l·sec	1.9 (1.7; 2.2)	2.2* (2.0; 2.5)
Поглощение кислорода крови за 1 мин (C_1), % Blood oxygen consumption per 1 minute, %	0.57 (0.5; 0.7)	0.66* (0.6; 0.8)
Поглощение кислорода крови на 30 минуте (C_{30}), % Blood oxygen consumption at the 30th minute, %	5.8 (5.0; 6.6)	6.7* (6.1; 7.7)
Поглощение кислорода крови на 40 минуте (C_{40}), % Blood oxygen consumption at the 40th minute, %	5.7 (5.0; 6.5)	6.5* (6.0; 7.6)
Период полупоглощения кислорода крови ($T_{1/2}$), мин Blood oxygen semi-consumption period, min	87.8 (76.4; 101.0)	75.8* (65.8; 82.0)

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Note: * – $p < 0.05$ in comparison with the control.

В группе пациентов с атеросклерозом БЦА отмечено статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение скорости окисления крови (2,2 (2,0; 2,5)) по сравнению с группой контроля (1,9 (1,7; 2,2)); показателей поглощения кислорода за 1 минуту (0,66 (0,6; 0,8)) в сравнении с контролем (0,57 (0,5; 0,7)); поглощения кислорода на 30 минуте (6,7 (6,1; 7,7)) против (5,8 (5,0; 6,6)) и на 40 минуте (6,5 (6,0; 7,6)) по сравнению с контрольным показателем (5,7 (5,0; 6,5)). Одновременно регистрируется достоверное ($p < 0,001$) снижение времени полупоглощения кислорода (75,8 (65,8; 82,0)) в сравнении с (87,8 (76,4; 101,0)) в группе контроля.

Результаты исследования поглощения кислорода у больных атеросклерозом с поражением артерий нижних конечностей представлены в таблице 2.

Проведенный сравнительный анализ показал повышение поглощения кислорода крови и снижение времени полупоглощения у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в сравнении с группой контроля. В группе пациентов с атеросклерозом ПФА установлена статистически значимо ($p < 0,001$) более высокая скорость окисления крови (2,4 (1,9; 2,5)) в сравнении с показателем группы контроля (1,9 (1,7; 2,2)), равно как и скорость поглощения кислорода за 1 минуту (0,7 (0,6; 0,8)) по сравнению с (0,57 (0,5; 0,7)); ско-

рости поглощения кислорода на 30 минуте (7,0 (5,7; 7,5)) против (5,8 (5,0; 6,6)) и на 40 минуте (6,9 (6,1; 7,6)) в сравнении с контрольным показателем (5,7 (5,0; 6,5)). Время полупоглощения кислорода у больных с атеросклерозом ПФА было значимо ($p < 0,001$) ниже (71,5 (66,7; 86,2)), чем в группе контроля (87,8 (76,4; 101,0)).

Окислительный стресс считают основным фактором хронического патологического ремоделирования стенок артерий [9]. Оно проявляется атеросклеротическим поражением, постепенно приводящим к уменьшению их просвета. Процесс окислительного повреждения может остановиться при взаимодействии радикалов друг с другом, с антиоксидантами или антиоксидантными ферментами. Скорость окисления тем меньше, чем больше концентрация антиоксидантов. Напротив, избыточные свободные радикалы вызывают окислительное повреждение мембран, белков и генов клеток [12]. В нашем исследовании для моделирования окислительного стресса в исследуемую плазму вносили водорастворимый индуктор ААРН. Пробы крови помещались в биологический кислородный монитор и инкубировались при температуре 37⁰С. При такой температуре индуктор распадается на молекулярный азот и два алкоксильных углеродных радикала, реагирующие с кислородом пробы с формированием пероксильных радикалов. Присутствующие в крови антиоксиданты

Таблица 2
Table 2

Показатели поглощения кислорода
у больных атеросклерозом с преимущественным поражением артерий нижних конечностей
The parameters of oxygen consumption in patients with lower extremities arteries atherosclerosis

Показатель Parameter	Группа контроля (n=25) Control group	Атеросклероз ПФА (n=22) Lower extremities arteries atherosclerosis group
Скорость окисления крови (R_{ox}), ммоль/л·с Blood oxidation rate, mmol/l·sec	1.9 (1.7; 2.2)	2.4* (1.9; 2.5)
Поглощение кислорода крови за 1 мин (C_1), % Blood oxygen consumption per 1 minute, %	0.57 (0.5; 0.7)	0.7* (0.6; 0.8)
Поглощение кислорода крови на 30 минуте (C_{30}), % Blood oxygen consumption at the 30th minute, %	5.8 (5.0; 6.6)	7.0* (5.7; 7.5)
Поглощение кислорода крови на 40 минуте (C_{40}), % Blood oxygen consumption at the 40th minute, %	5.7 (5.0; 6.5)	6.8* (6.1; 7.6)
Период полупоглощения кислорода крови ($T_{1/2}$), мин Blood oxygen semi-consumption period, min	87.8 (76.4; 101.0)	71.5* (66.7; 86.2)

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Note: * – $p < 0.05$ in comparison with the control.

взаимодействуют с радикалами, преобразуя активные радикалы в малоактивные. После истощения антиоксидантов свободные радикалы начинают взаимодействовать с липидами крови, генерируя из алкоксильных радикалов гидроксиды, а из пероксильных – гидропероксиды [14].

В плазме крови субстратами свободнорадикального окисления служат полиненасыщенные жирные кислоты липопротеидов, причем наиболее подвержены данному процессу жирные кислоты, входящие в состав липопротеидов низкой плотности [8]. При исследовании перекисного окисления ЛПНП плазмы крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии основными определяющимися продуктами являются гидроксиды и гидропероксиды эфиров холестерина, детектируются также гидроксиды и гидропероксиды фосфатидилхолина, но в гораздо меньших количествах. При концентрации ААРН, равной 5мМ, перекисное окисление липидов крови начинается приблизительно через 240 минут [14].

Поскольку в нашей работе концентрация ААРН была вдвое больше, а разведение плазмы в 5 раз выше, то есть содержание антиоксидантов было значительно меньшим, постольку запуск процесса перекисного окисления липидов осуществлялся гораздо раньше и соответствовал усилению поглощения кислорода крови

на 30, либо на 40 минуте, в зависимости от антиоксидантного статуса пациентов.

Повышение показателя поглощения кислорода у больных атеросклерозом, выявлявшееся на 30 минуте исследования, свидетельствовало о более высоком исходном уровне перекисного окисления липидов, повышении концентрации продуктов пероксидации и быстром истощении антиоксидантной системы по сравнению с группой контроля, с некоторым снижением потребления кислорода к 40 минуте, соответствовавшем кинетике спада образования радикалов липидов.

Таким образом, в связи с системностью атеросклеротического процесса у больных атеросклерозом, вне зависимости от преимущественной локализации атеросклеротического поражения, наблюдается повышение показателей поглощения кислорода крови, свидетельствующее либо о высокой реактогенности субстрата окисления, либо о недостаточной эффективности работы системы антиоксидантной защиты.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование выполнено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Исследование одобрено Этическим комитетом Ярославского государственного медицинского университета (протокол заседания № 16 от 06 ноября 2014 года).

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Чулкова А.С. – участие в разработке концепции и дизайна, получение, обработка, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи. Бондаренко Е.Т. – участие в разработке концепции и дизайна, получение, обработка, анализ и интерпретация данных. Ильин М.В. – участие в разработке концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ahotupa M., Suomela J.P., Vuorimaa T., Vasankari T. Lipoprotein-specific transport of circulating lipid peroxides. *Ann Med.* 2010; 42(7):521-529. DOI: 10.3109/07853890.2010.510932
2. Ambrose J.A., Srikanth S. Vulnerable plaques and patients: improving prediction of future coronary events. *Am J Med.* 2010; 123(1):10-16. DOI: 10.1016/j.amjmed.2009.07.019
3. Cavill R., Keun H.C., Holmes E., Lindon J.C., Nicholson J.K., Ebbels T.M. Genetic algorithms for simultaneous variable and sample selection in metabolomics. *Bioinformatics.* 2009; 25:112-118. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn586
4. Chen C.L., Liu I.H., Fliesler S.J., Han X., Huang S.S., Huang J.S. Cholesterol suppresses cellular TGF-beta responsiveness: implications in atherogenesis. *J Cell Sci.* 2007; 120:3509-3521. DOI: 10.1242/jcs.006916
5. Fearon I.M., Faux S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol.* 2009; 47(3):372-381. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.05.013
6. Fessler M.B., Rudel L.L., Brown J.M. Toll-like receptor signaling links dietary fatty acids to the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20(5):379-385. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32832fa5c4
7. Kitano H. System biology: a brief overview. *Science.* 2002; 295(5560):1662-1664. DOI: 10.1126/science.1069492
8. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kapelko V.I., Shepel'kova G.S., Shumaev K.B., Panasenko O.M., Konovalova G.G., Belenkov Y.N. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress. *Biochemistry (Mosc).* 2007; 72(10):1081-1090.
9. Manchester L.C., Coto-Montes A., Boga J.A., Andersen L.P., Zhou Z., Galano A., Vriend J., Tan D.X., Reiter R.J. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res.* 2015; 59(4):403-419. DOI: 10.1111/jpi.12267
10. Martini F., Ober W.C. *Fundamentals of anatomy and physiology.* Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall, 2001. 1001 p.
11. Naghavi M., Libby P., Falk E., Casscells S.W., Litovsky S., Rumberger J., Badimon J.J. et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation.* 2003; 108(15):1772-1778. DOI: 10.1161/01.CIR.0000087481.55887.C9
12. Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International.* 2014; 2014:761264. DOI: 10.1155/2014/761264
13. Vaya J. Exogenous markers for the characterization of human diseases associated with oxidative stress. *Biochimie.* 2013; 95(3):578-584. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.03.005
14. Yoshida Y., Itoh N., Saito Y., Hayakawa M., Niki E. Application of water-soluble radical initiator, 2,2'-azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propane] dihydrochloride, to a study of oxidative stress. *Free Radic Res.* 2004; 38(4):375-384.

Поступила в редакцию 10.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Чулкова А.С., Бондаренко Е.Т., Ильин М.В. Кинетика поглощения кислорода крови у больных атеросклерозом. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2019;(2):74-79. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/08.

KINETICS OF BLOOD OXYGEN CONSUMPTION IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

© Chulkova A.S.¹, Bondarenko E.T.¹, Ilyin M.V.^{1,2}

¹ Yaroslavl Regional Clinical Hospital (YRCH)

7, Yakovlevskaya St., Yaroslavl region, Yaroslavl, 150062, Russian Federation

² Yaroslavl State Medical University (YSMU)

5, Revolyutsionnaya St., Yaroslavl region, Yaroslavl, 150000, Russian Federation

Objective. The purpose of the study was to evaluate the kinetics of blood oxygen consumption in patients with atherosclerosis of various vascular pools.

Materials and methods. We examined 47 patients with atherosclerosis including 25 patients with primary damage of brachiocephalic arteries and 22 patients with obliterating atherosclerosis of arteries of lower extremities. The diagnosis of atherosclerosis was established on the basis of ultrasonic duplex scanning and was confirmed by the data of angiography. The kinetics of the induced oxygen consumption in blood plasma was studied using the biological oxygen monitor. To generate free radicals formation we used 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH).

Results. We found the increased blood oxidation rate and the increase in parameters of oxygen consumption per 1 minute, oxygen consumption rate at the 30th and 40th minutes and also the decrease in oxygen semi-consumption period in patients with atherosclerosis with primary damage of brachiocephalic and peripheral arteries versus the controls. The increase in blood oxygen consumption in patients with atherosclerosis which was revealed at the 30th minute proved a higher initial level of peroxide oxidation of lipids, the increase in concentration of peroxidation products and fast exhaustion of antioxidant system as compared to the controls, with some decrease in oxygen consumption by the 40th minute that corresponded to kinetics of free radicals recession.

Conclusion. Due to the systemic character of atherosclerotic process, the increase in oxygen consumption parameters which might reflect a high reactivity of oxidation substrate or an antioxidant defense system failure is observed in patients with atherosclerosis regardless of the primary localization of atherosclerotic damage.

Keywords: atherosclerosis, oxygen consumption, antioxidant defense system.

Chulkova Anna S. – cardiologist, YRCH, Yaroslavl, Russia. ORCID iD: 0000-0003-3241-4374. E-mail: anninwonder@gmail.com (correspondence author)

Bondarenko Elena T. – doctor of clinical laboratory diagnostics, YRCH, Yaroslavl, Russia. ORCID iD: 0000-0003-3230-2145. E-mail: bondarenko-et@yandex.ru

Ilyin Mikhail V. – DM, Head of the Department of Therapeutics named after Professor E.N. Dormidontov, YSMU, Yaroslavl, Russia. ORCID iD: 0000-0001-6278-374X. E-mail: dekanat-2011@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was carried out in compliance with the principles of humanity set forth in the EU Directive 86/609/EEC and the Declaration of Helsinki. The study was approved by the Ethical Committee under Yaroslavl State Medical University.

AUTHORS CONTRIBUTION

Chulkova A.S. – participation in developing the research concept and design, data collection, analyzing and interpreting the results, writing the manuscript; Bondarenko E.T. – participation in developing the research concept and design, data collection, analyzing and interpreting the results; Ilyin M.V. – participation in developing the research concept and design, substantiation of the manuscript and critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication.

Received 10.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Chulkova A.S., Bondarenko E.T., Ilyin M.V. Kinetics of blood oxygen consumption in patients with atherosclerosis. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):74-79. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/08.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИСБИОЗЕ

© Мухина А.Ю., Бобынцев И.И., Медведева О.А., Мишина Е.С., Свищева М.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Целью исследования явилось изучение морфологических особенностей толстой кишки крыс при стресс-индуцированном дисбиозе.

Материалы и методы. Работа выполнена на 26 крысах-самцах Вистар, которые были разделены на две группы: первая группа являлась интактной (контроль), животные второй группы находились в условиях хронического иммобилизационного стресса в виде ограничения движения путем помещения в индивидуальные пластиковые боксы ежедневно на 2 часа в течение 14 дней. По истечении указанного срока животных выводили из эксперимента путем обескровливания под эфирным наркозом с последующим забором участка толстой кишки, который исследовали гистологически и морфометрически.

Результаты. В условиях стресса развивались изменения острого воспалительного характера, отмечались явления реорганизации поверхностной архитектоники. Сокращалось количество бокаловидных клеток, клеточный состав представлен преимущественно лимфоцитами, плазмочитами и макрофагами, единичными нейтрофилами. Зарегистрировано резкое увеличение числа тучных клеток по сравнению с контролем, причем большая часть из них находится в дегранулированной форме (4 тип). Полученные данные позволяют констатировать перестройку гистологических структур толстой кишки экспериментальных животных под влиянием хронического иммобилизационного стресса и согласуются с современными представлениями о провоспалительном действии стресса на кишечник.

Заключение. В условиях хронического иммобилизационного стресса в толстой кишке крыс формирование дисбиоза происходит на фоне развития в ее стенке морфологических изменений воспалительного и деструктивного характера.

Ключевые слова: хронический иммобилизационный стресс, стресс-индуцированный дисбиоз, стенка толстой кишки.

Мухина Александра Юрьевна – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-1254-9784. E-mail: 111ms@mail.ru

Бобынцев Игорь Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Медведева Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Мишина Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: katusha100390@list.ru

Свищева Мария Владимировна – очный аспирант кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-9825-1139. E-mail: mascha.svisheva@yandex.ru

Изучение функциональных взаимосвязей между пищеварительным трактом и центральной нервной системой является актуальной проблемой современной медицины. Согласно сформировавшимся к настоящему времени представлениям, ось микробиота–кишечник–мозг представляет сложную сеть коммуникаций между самим кишечником, кишечной микробиотой и мозгом и охватывает функции иммунной, эндокринной, нервной систем и неспецифического природного иммунитета [1, 14, 17, 18].

В условиях современного образа жизни хронический стресс оказывает разностороннее влияние на состояние здоровья человека. При этом непродолжительное стрессорное воздействие чаще позволяет макроорганизму адаптироваться посредством физиологических и поведенческих реакций, тогда как воздействия чрезмер-

ной силы или продолжительности могут оказывать негативное влияние на физическое и психическое здоровье человека, в том числе на функции желудочно-кишечного тракта, например, модулируя качественный и количественный состав кишечной микробиоты [3, 6, 21].

В полученных нами ранее результатах было показано, что в условиях хронического иммобилизационного стресса происходит снижение удельного содержания облигатных представителей мукозной микробиоты толстой кишки крыс на фоне повышенного содержания факультативных микроорганизмов. Также было установлено, что стресс не влияет на частоту встречаемости облигатных лактобацилл, бифидобактерий и кишечной палочки, тем не менее структура популяции изменяется за счет увеличения частоты встречаемости и относительного среднего или появления в структуре изучаемого

микробиоценоза факультативных условно-патогенных микроорганизмов [4].

Согласно литературным данным, одной из ключевых причин изменения колонизационной резистентности нормомикробиоты, ведущей к формированию дисбиоза, является нарушение функциональной и анатомической целостности кишечного барьера, в том числе под влиянием стрессорного воздействия [7, 12, 13]. В связи с вышеизложенным представляется необходимым изучение морфологических особенностей толстой кишки крыс при стресс-индуцированном дисбиозе, что и послужило целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 26 крысах-самцах Вистар массой 240-280 г, которые были получены из питомника лабораторных животных филиала Института биоорганической химии РАН (г. Пущино). Животные содержались в стандартных условиях вивария Курского государственного медицинского университета в пластиковых клетках при температуре воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$, световом режиме 12 часов – свет, 12 часов – темнота, со свободным доступом к воде и гранулированному корму [5].

Экспериментальные животные были разделены на две группы по 13 особей в каждой. Крысы в первой группе являлись интактными (контроль), во второй группе находились в условиях хронического иммобилизационного стресса (ХИС) в виде ограничения движения путем помещения в индивидуальные пластиковые боксы ежедневно на 2 часа в течение 14 дней [10, 15, 20]. По истечении указанного срока животных выводили из эксперимента путем обескровливания под эфирным наркозом с последующим забором участка толстой кишки. Забор крови осуществлялся из правого желудочка сердца с использованием закрытых систем для взятия крови S-Monovette® с активатором свертывания для получения сыворотки (SARSTEDT, Германия). В дальнейшем пробирки со свернувшейся кровью центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 1500 об/мин, полученную сыворотку разливали в промаркированные пластиковые микропробирки емкостью 0,5 мл и замораживали при -20°C для определения содержания кортикостерона в сыворотке крови.

Полученный биологический материал промывали 5% раствором нейтрального формалина и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После фиксации иссекали меньшие кусочки тканей толстой кишки и после промывки, обезвоживания и пропитывания пара-

фином по стандартной методике микротомировали. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопирование и микрофотосъемку проводили с помощью оптической системы, состоящей из микроскопа Leica CME и окуляр-камеры DCM – 510, на увеличениях $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$ крат с документированием снимков в программе FUTURE WINJOE.

На микрофотографиях оценивали архитектуру толстой кишки, глубину крипт, количество бокаловидных клеток, наличие и выраженность воспалительных и некротических изменений.

Морфометрическое исследование заключалось в подсчете клеточного состава воспалительного инфильтрата. По кариологическим признакам дифференцировали следующие клетки: нейтрофилы, лимфоциты, макрофаги, плазмоциты. Процентное соотношение указанных представителей клеточной популяции рассчитывали после подсчета 100 клеток в нескольких непересекающихся полях зрения (не менее 10).

Изучение функциональной активности тучных клеток определяли путем подсчета разных типов тучных клеток согласно классификации Линдера Д.П. и соавт. (1980), где

- 1 – число недегранулирующих клеток (T1);
- 2 – слабдегранулирующие тучные клетки (T2);
- 3 – клетки с умеренной степенью дегрануляции (T3);
- 4 – клетки с сильной степенью дегрануляции (T4).

Полученные цифровые данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2010 и программной среды вычислений R. Характер распределения признаков в статистической выборке определяли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Значимость полученных результатов оценивали с помощью непарного параметрического t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы 1, по окончании эксперимента уровень кортикостерона в сыворотке крови стрессированных животных был на 39% ($p < 0,01$) выше, чем у интактных крыс. Данный факт и продолжительность стрессорного воздействия могут свидетельствовать о развитии в использованной модели стресса в стадии резистентности. При морфологическом исследовании биопсийного материала интактных

Морфометрические показатели толстой кишки крыс в условиях ХИС

Morphometric parameters of the rats' colon under restraint stress

Показатель Parameter	Интактные животные (контроль) Intact animals (control)	ХИС Chronic restraint stress
Глубина крипт Crypt depth	173.51±0.41	156.12±0.37*
Бокаловидные клетки Goblet cells	66.55±0.51	61.27±0.54*
Тучные клетки тип 1 Mast cells type 1	5.15±0.35	12.92±0.54*
Тучные клетки тип 2 Mast cells type 2	5.85±0.74	12.23±0.63*
Тучные клетки тип 3 Mast cells type 3	5.46±0.61	17.38±0.59*
Тучные клетки тип 4 Mast cells type 4	2.62±0.50	21.38±0.66*
Нейтрофилы Neutrophils	1.24±0.39	2.15±0.34
Лимфоциты Lymphocytes	19.85±0.67	33.92±0.69*
Макрофаги Macrophages	3.54±0.56	13.77±0.68*
Плазмоциты Plasma cells	10.85±0.49	14.54±0.68*

Примечание: * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группойNote: * – $p \leq 0.05$ as compared to the control group

животных установлено, что толстая кишка имеет нормальное 4-слойное строение (рисунок 1). Слизистая оболочка покрыта однослойным призматическим эпителием. Столбчатые эпителиоциты высокие, большое количество бокаловидных и недифференцированных клеток в поле зрения. Собственная пластинка слизистой оболочки представлена тонкими соединительнотканскими прослойками между криптами. Крипты глубокие, имеют слегка расширенную апикальную часть, что является вариантом нормы. Бокаловидные клетки со слабоокислительной цитоплазмой в большом количестве на стандартную площадь (таблица 1). Среди тучноклеточной популяции преобладают клетки 2 и 3 типов. В поле зрения встречаются немногочисленные лимфоциты и макрофаги. Мышечная пластинка слизистой имеет 2-слойное строение: наружный слой продольный, мышечные клетки расположены более рыхло, чем во внутреннем – циркулярном. В подслизистом слое клеточный состав представлен в основном клетками рыхлой волокнистой соединительной ткани, единичными жировыми и тучными клетками. Мышечная оболочка имеет обычное морфологическое строение. Наружный слой представлен продольными волокнами, собранными в

виде трех лент, между которыми обнаруживается небольшое количество пучков гладких миоцитов, и внутренний слой представлен циркулярно направленными волокнами. Между ними располагается рыхлая волокнистая соединительная ткань с кровеносными и единичными лимфатическими сосудами и нервным мышечно-кишечным сплетением. В серозной оболочке изменений не наблюдалось.

В условиях ХИС происходило развитие изменений, характерных для стадий острого воспаления, что проявлялось в виде отека всех слоев кишки с явлением полилокальной круглоклеточной инфильтрации, деструкции покровного эпителия слизистой, расширения крипт по фовеолярному типу. В отдельных образцах присутствует поверхностное изъязвление и выраженная полиморфноклеточная инфильтрация подслизистой оболочки (рисунок 2).

Отмечаются явления реорганизации поверхностной архитектоники. Крипты расширены, их глубина уменьшена на 10% по сравнению с контролем. Выявлено утолщение собственной пластинки слизистой.

В опытной группе число бокаловидных клеток на 8% меньше на единицу площади по сравнению с контролем. При этом клеточный



Рис. 1 – Микрофотография стенки толстой кишки в группе «интактные животные». Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: х40.

Fig. 1 – Micrograph of the colon wall in the group "intact animals". H+E. Mx40.

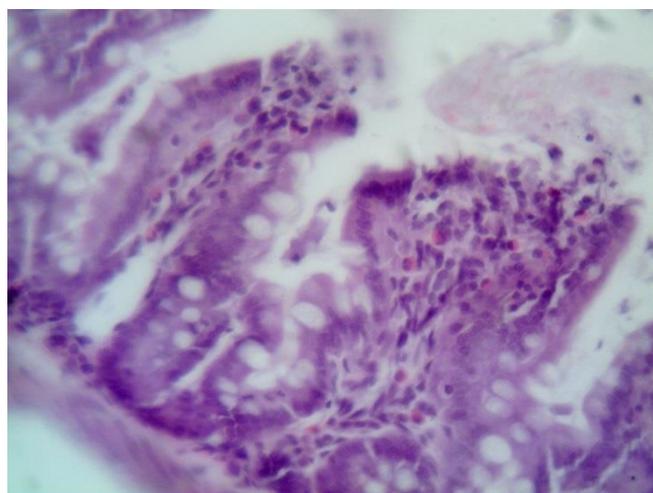


Рис. 2 – Микрофотография стенки толстой кишки в группе «ХИС». Некроз и десквамация в просвете клеток поверхностного эпителия, отек и лейкоцитарная инфильтрация собственной пластинки. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: х400.

Fig. 2 – Micrograph of the colon wall in the "Restraint stress" group. Necrosis and desquamation in the lumen of surface epithelial cells, edema and leukocyte infiltration of the lamina propria. H+E.M x400.

состав представлен преимущественно лимфоцитами, плазмочитами и макрофагами, количество которых возросло на 71%, 34% и 289% соответственно по сравнению с интактными животными, зарегистрированы единичные нейтрофилы (рисунок 3).

В образцах, полученных от стрессированных животных, отмечается резкое увеличение числа тучных клеток по сравнению с контролем, причем большая часть из них представлена клетками в дегранулированной форме (4 типа), на долю которых приходится 39% от общего числа тучных клеток. В подслизистой оболочке тучные клетки располагаются группами, преимущественно вокруг элементов микроциркуляторного сосудистого русла.

Полученные данные позволяют констатировать перестройку гистологических структур толстой кишки экспериментальных животных

под влиянием ХИС и согласуются с современными представлениями о провоспалительном действии стресса на кишечник [8].

Выявленные морфологические изменения воспалительного характера можно объяснить типичной стрессорной реакцией в виде капилляростаза, выхода полиморфноядерных лейкоцитов из костного мозга, нарушением базальной мембраны и клеточной проницаемости. В основе данных изменений могут находиться следующие механизмы. Известно, что хронический стресс способен нивелировать противовоспалительное действие вагуса [9]. Кроме того, кортикотропин-рилизинг фактор и кортикостероиды надпочечников играют важную роль в снижении экспрессии зонулина и разрушении плотных межклеточных контактов [19]. Необходимо также отметить, что изменение проницаемости кишечного барьера индуцирует

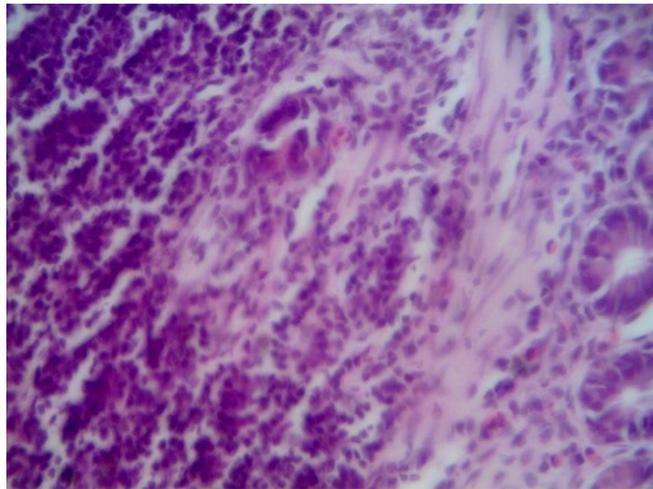


Рис. 3 – Микрофотография стенки толстой кишки в группе «ХИС». Круглоклеточная инфильтрация слизистого и подслизистого слоя толстой кишки. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: x400.

Fig. 3 – Micrograph of the colon wall in the "Restraint stress" group. Round-cell infiltration of the colon mucous and submucous layer. H+E. Mx400.

токсическое действие продуктов жизнедеятельности и гибели представителей микробиоценоза [16]. При анализе полученных данных следует учитывать, что выявленные на 14 день морфологические изменения соответствуют переходу воспаления в экссудативную фазу.

Установленные в ходе эксперимента типичные количественные изменения и варьирование функциональной активности тучных клеток согласуются с их ролью в регуляции локальной гемодинамики, секреторной активности и провоспалительным эффектом гистамина [13].

Атрофические явления в виде изменения глубины крипт и количества бокаловидных клеток, предположительно, явились результатом деструктивных изменений, что может быть связано с нарушением моторики и ишемией слизистой оболочки в условиях нарушения микроциркуляции в условиях стресса [8, 11, 16, 21].

Таким образом, в условиях хронического иммобилизационного стресса в толстой кишке крыс формирование дисбиоза происходит на фоне развития в ее стенке морфологических изменений воспалительного и деструктивного характера.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все исследования проводились с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном

отношении к животным, директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей, «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012) и в соответствии с решением регионального этического комитета (протокол № 4 от 30.11.2017 г.).

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Мухина А.Ю. – разработка концепции и дизайна исследования, выполнение эксперимента, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи статьи. Бобынцев И.И. – научный руководитель исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи. Медведева О.А. – научный руководитель исследования. Мишина Е.С. – выполнение эксперимента, проведение морфометрии. Свищева М.В. – разработка концепции и дизайна исследования, выполнение эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Аверина О.В., Даниленко В.Н. Микробиота кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы. *Микробиология*. 2017; 86(1):5–24. DOI: 10.7868/S0026365617010050 [Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: Role in development and functioning of the nervous system. *Microbiology (Mikrobiologiya)*. 2017;86(1):1-18. DOI: 10.1134/S0026261717010040].
2. Гланц С. *Медико-биологическая статистика: перевод с английского*. Москва: Практика, 1998. 459 с. [Glanz S. *Medical and biological statistics: translation from English*. Moscow: Praktika, 1998. 459 p. (in Russ.)].
3. Михайлова А.П., Ченченко Д.В., Штрахова А.В. Микробиотический фактор, здоровье и стрессиндуцированные психические расстройства. *Вестник Южно-уральского государственного университета. Серия: Психология*. 2018; 11(1):75–87

- [Mikhaylova A.P., Chenchenko D.V., Shtyrakova A.V. Microbiotic factor, health and stress-induced mental disorder. *Vestnik Yuzhno-ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Psikhologiya*. 2018; 11(1):75–87 (in Russ.)] DOI: 10.14529/psy180107.
4. Мухина А.Ю., Медведева О.А., Свищева М.В., Шевченко А.В., Ефремова Н.Н., Бобынцев И.И., Калущкий П.В. Оценка состояния микробиоценоза толстой кишки экспериментальных животных в условиях иммобилизационного стресса. *Астраханский медицинский журнал*. 2019; 14(1):54-60 [Mukhina A.Yu., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Shevchenko A.V., Efremova N.N., Bobyntsev I.I., Kalutskiy P.V. State of experimental animals' colon microbiocenosis under restraint stress. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2019; 14(1):54-60 (in Russ.)] DOI: 10.17021/2019.14.1.54.60.
 5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть I. Под ред. А.Н. Миронова. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с. [Guidelines for preclinical studies of drugs. Part I. A.N. Moronov, editor. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (in Russ.)].
 6. Рябиченко Е.В., Бондаренко В.М. Кишечно-мозговые взаимоотношения в норме и патологии (обзор литературы). *Верхневолжский медицинский журнал*. 2013; 11(1):34-39 [Ryabichenko E.V., Bondarenko V.M. Gut-brain interrelationships in health and disease. *Verkhnevolzhskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 11(1):34-39 (in Russ.)].
 7. Albenberg L.G, Wu. G.D. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology*. 2014; 146(6):1564-1572. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.058
 8. Belkaid Y., Hand T. W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014; 157(1):121-141. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
 9. Bonaz B., Sinniger V., Pellissier S. Anti-inflammatory properties of the vagus nerve: potential therapeutic implications of vagus nerve stimulation. *J Physiol*. 2016; 594(20):5781-5790. DOI: 10.1113/JP271539.
 10. Chen H., Fu Y., Sharp B.M. Chronic nicotine self-administration augments hypothalamic-pituitary-adrenal responses to mild acute stress. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(4):721-730. DOI: 10.1038/sj.npp.1301466.
 11. Circu M.L., Aw T.Y. Intestinal redox biology and oxidative stress. *Semin Cell Dev Biol*. 2012; 23(7):729-737. DOI: 10.1016/j.semcdb.2012.03.014.
 12. Galley J.D., Nelson M.C., Yu Z., Dowd S.E., Walter J., Kumar P.S., Lyte M., Bailey M.T. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiol*. 2014; 14:189. DOI: 10.1186/1471-2180-14-189.
 13. Gareau M. G., Silva M. A., Perdue M. H. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage. *Curr Mol Med*. 2008; 8(4):274-281.
 14. Hansen M.B. The enteric nervous system I: organisation and classification. *Pharmacol Toxicol*. 2003; 92(3):105-113. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2003.t01-1-920301.x.
 15. Kim M.H., Leem Y.H. Chronic exercise improves repeated restraint stress-induced anxiety and depression through 5HT1A receptor and cAMP signaling in hippocampus. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2014; 18(1):97-104. DOI: 10.5717/jenb.2014.18.1.97.
 16. Moussaoui N., Jacobs J.P., Larauche M., Biraud M., Million M., Mayer E., Taché Y. Chronic early-life stress in rat pups alters basal corticosterone, intestinal permeability, and fecal microbiota at weaning: influence of sex. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017; 23(1):135-143. DOI: 10.5056/jnm16105.
 17. Rao M., Gershon M.D. Neurogastroenterology: The dynamic cycle of life in the enteric nervous system. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Aug; 14(8):453-454. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.85.
 18. Stilling R.M., Dinan T.G., Cryan J.F. Microbial genes, brain & behaviour – epigenetic regulation of the gut-brain axis. *Genes Brain Behav*. 2014; 13(1):69-86. DOI: 10.1111/gbb.12109.
 19. Taché Y., Larauche M., Yuan P. Q., Million M. Brain and gut CRF signaling: biological actions and role in the gastrointestinal tract. *Curr Mol Pharmacol*. 2018; 11(1):51-71. DOI: 10.2174/1874467210666170224095741.
 20. Wang S.W. Effects of restraint stress and serotonin on macronutrient selection: a rat model of stress-induced anorexia. *Eat Weight Disord*. 2002; 7(1):23-31.
 21. Zheng J., Dobner A., Babygirija R., Ludwig K., Takahashi T. Effects of repeated restraint stress on gastric motility in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009; 296(5):R1358-1365. DOI: 10.1152/ajpregu.90928.2008.

Поступила в редакцию 15.02.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Мухина А.Ю., Бобынцев И.И., Медведева О.А., Мишина Е.С., Свищева М.В. Морфологические особенности толстой кишки крыс при стресс-индуцированном дисбиозе. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):80-86. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/09.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE RATS' LARGE INTESTINE WITH STRESS-INDUCED DYSBIOSIS

© Mukhina A.Yu., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Mishina E.S., Svishcheva M.V.

Kursk State Medical University (KSMU)
3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

Objective. The aim was to study the morphological features of the rats' colon with stress-induced dysbiosis.

Materials and methods. The work was performed on 26 Wistar male rats, which were divided into two groups: the first group was intact (control) one; the animals of the second group were under conditions of chronic restraint stress in the form of movement restriction by confining in individual plastic boxes for 2 hours daily for 14 days. After this period, the animals were taken out of the experiment, followed by sampling the colon, which was examined histologically and morphometrically.

Results. Under stress, changes of an acute inflammatory nature developed, phenomena of surface architectonics reorganization were noted. The number of goblet cells was reduced; the cell composition was predominantly represented by lymphocytes, plasmocytes and macrophages, single neutrophils. A sharp increase in the number of mast cells was recorded as compared to the control, most of them being in degranulated form (type 4). The data obtained allow us to note the restructuring of the histological structures of the colon of experimental animals under the influence of chronic restraint stress and are consistent with modern ideas about the pro-inflammatory effect of stress on intestines.

Conclusion. Under conditions of chronic restraint stress in the rats' colon, the formation of dysbiosis occurs against the background of the morphological changes of inflammatory and destructive nature in its wall.

Key words: chronic immobilization stress, stress-induced dysbiosis, colon wall, large intestine.

Mukhina Aleksandra Yu. – Assistant of Department of Microbiology, Virology, Immunology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1254-9784. E-mail: 111ms@mail.ru

Bobyntsev Igor' I. – DM, Professor, Head of Department of Pathophysiology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru (correspondence author)

Medvedeva Ol'ga A. – Doctor of Biology, Associate Professor, Professor of Department of Microbiology, Virology, Immunology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Mishina Ekaterina S. – PhD in Medicine, Assistant of Department of Hystology, Embryology, Cytology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: katusha100390@list.ru

Svishcheva Maria V. – Post-Graduate Student, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9825-1139. E-mail: mascha.svisheva@yandex.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

“Guidelines for preclinical studies of drugs (Moscow, 2012), and in accordance with the decision of the regional ethics committee (protocol No. 4 of November 30, 2017).

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Mukhina A.Yu. – developing the study concept and design, the experiment conduction, data analysis and interpretation, the manuscript preparation. Bobyntsev I.I. – the research supervisor, final approval for manuscript publication. Medvedeva O.A. – the research supervisor. Mishina E.S. – the experiment and morphometry conduction. Svishcheva M.V. – developing the study concept and design, the experiment conduction.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

All studies were carried out in compliance with the principles of the Helsinki Declaration on the Humane Treatment of Animals, directives of the European Parliament and of the Council of the European Union 2010/63 / EC of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes,

Received 15.02.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Mukhina A.Yu., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Mishina E.S., Svishcheva M.V. Morphological features of the rats' large intestine with stress-induced dysbiosis. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):80-86. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/09.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ЛАТУКА КОМПАСНОГО (*LACTUCA SERRIOLA* L.)

© Бубенчиков Р.А., Кораблева Т.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Статья посвящена стандартизации сырья латука компасного семейства Астровых (*Asteraceae*). Латук компасный (*Lactuca serriola* L.) – одно- или двулетнее травянистое растение, широко распространенное в областях Центрального Черноземья.

Целью работы явилась разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного.

Материалы и методы. Объект исследования – латука компасного трава, заготовленная в 2017-2018 году в фазу цветения. В основу метода качественной идентификации флавоноидов положена тонкослойная хроматография, основу количественного определения составляет спектрофотометрический метод.

Результаты. При проведении качественной идентификации установлены следующие условия: пластинки Sorbfil на алюминиевой подложке, объем нанесения исследуемого извлечения – 10 мкл, подвижная фаза: н. бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), стандартное вещество – лютеолин-7-глюкозид (цинарозид), детектирование: обработка 5% раствором алюминия хлорида, просмотр в УФ-свете до и после обработки алюминия хлоридом. Валидация методики проведена по показателям: специфичность, робастность, воспроизводимость. Для количественного определения флавоноидов разработана спектрофотометрическая методика определения в пересчете на цинарозид, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом. Определены оптимальные условия экстрагирования: степень измельчения сырья – 1 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, время экстракции – 30 минут.

Заключение. Разработаны методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного. Содержание флавоноидов колебалось от $1,04 \pm 0,05\%$ до $1,58 \pm 0,07\%$. Ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 4,80%.

Ключевые слова: латук компасный, астровые, флавоноиды, стандартизация, хроматография, спектрофотометрия.

Бубенчиков Роман Александрович – д-р фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, КГМУ, г. Курск. E-mail: bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Кораблева Татьяна Владимировна – аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники, КГМУ, г. Курск.

Латук компасный (*Lactuca serriola* L.) – растение семейства Астровые (*Asteraceae*), подсемейства Латуковые (*Lactucoideae*).

Растения рода латук включают 147 различных видов растений, характеризующихся большим разнообразием морфологических признаков и жизненных форм. Жизненные формы растений данного рода представлены однолетними, двулетними, многолетними травянистыми растениями и кустарниками [8, 15]. Растения рода имеют 5-зубчатые язычковые цветки желтого, синего или фиолетового цвета. Общим признаком для данных растений являются наличие млечного сока (латекса), содержащегося в млечниках [4, 8].

Среди растений рода латук на территории средней полосы европейской части России произрастает 6 видов: латук татарский, латук сибирский, латук солончаковый, латук дубравный, латук дикий или компасный, латук посевной. Наибольшее распространение среди них в областях Центрального Черноземья имеет латук дикий или компасный (*Lactuca serriola* L.). Это растение впервые было описано К. Линнеем

в 1756 году, а в 1763 году ему был дан синоним – латук дикий (*Lactuca scariola* L.). Латук компасный – это однолетнее, реже двулетнее травянистое растение с прямостоячим бороздчатым стеблем желтоватого или беловатого цвета. Листья имеют продолговатую форму, чаще всего перистолопастные с двумя-четырьмя парами зубчатых лопастей, реже цельные, особенно в верхней части, полустеблеобъемлющие, с ушками у основания. Листовые пластинки расположены вертикально. Стебель и листья снизу в нижней части листа по главной жилке покрыты жесткими желтоватыми щетинками. Цветки язычковые, обоополье, желтого цвета, собраны в корзинки, образующие щитковидно-метельчатое соцветие. Плод – семянка с летучкой из волосков [8].

Латук компасный – рудеральное растение, распространен в европейской части России, кроме Крайнего Севера, на юге Сибири, на Кавказе [4].

Произрастает на сорных местах, по пустырям вблизи жилья, вдоль дорог, по залежам, в огородах, садах, посевах зерновых [4].

Трава латука компасного в виде настоя в народной медицине применяется в качестве обезболивающего, успокаивающего, жаропонижающего, слабительного и диуретического средства [1, 6]. С этой же целью находят применение и млечный сок растения. Экспериментальные исследования показали, что метанольный экстракт латука компасного проявляет спазмолитическое, бронхолитическое, сосудорасширяющее и противоопухолевое действие [9-11]. Терпеновые соединения растения обладают противовоспалительной, противоопухолевой, противомаларийной, цитотоксической, антибактериальной активностями [10].

Флавоноиды: лютеолин, кверцетин, кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид, лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, кемпферол, а также сесквитерпен 11/3,13-дигидролактucin показали антиоксидантное действие при взаимодействии с 1,1-дифенилпикрилгидразилом [12].

Что же касается сведений о химическом составе, то они немногочисленны и исследования проводились в основном зарубежными учеными. Во всех частях растения, в том числе и в млечном соке, найдены сесквитерпеновые лактоны; листья и стебли содержат тритерпеноиды; в надземной части обнаружены стероиды; в листьях идентифицируют флавоноиды, в семенах содержится жирное масло [6, 12-14, 16]. До настоящего времени не установлены действующие вещества латука компасного и не проведена его стандартизация.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом настоящего исследования явилась высушенная, а затем измельченная трава латука компасного. Данное сырье было заготовлено в 2017-2018 годах в фазу цветения (начало цветения) в окрестностях г. Курска. При этом были собраны и гербарные образцы, которые хранятся на кафедре фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета. Заготовку сырья проводили срезанием верхушек до 30 см без толстых и грубых стеблей и срыванием стеблевых листьев. Сушили на воздухе в тени, разложив заготовленное сырье в один слой. Далее сырье измельчали, просеивали сквозь сито и методом квартования выделяли среднюю пробу для проведения анализов [3].

Цель работы заключается в разработке методики идентификации и количественного определения флавоноидов травы латука компасного как одной из групп биологических активных веществ.

Одним из обязательных разделов фармакопейных статей на лекарственное растительное

сырье является раздел «Определение групп биологически активных веществ», включающий идентификацию основных групп биологически активных веществ с использованием современных аналитических методов [7]. Для идентификации флавоноидов в траве латука нами был выбран метод тонкослойной хроматографии, при котором основным аспектом является использование стандартизированной процедуры, включающей применение стандартных веществ, унифицированных подвижных фаз, а также проявляющих реактивов.

При разработке методики идентификации флавоноидов в траве латука компасного исследование проводили по следующим параметрам:

- выбор способа экстрагирования флавоноидов;
- выбор системы растворителей (подвижной фазы), позволяющей обеспечить наиболее полное разделение зон адсорбции, четкости пятен исследуемых извлечений;
- выбор аликвоты для нанесения на хроматографическую пластинку исследуемых извлечений;
- выбор стандартных веществ;
- выбор проявляющего реактива.

При выборе способа экстрагирования флавоноидов из травы латука компасного экстракцию проводили двумя способами, которые наиболее часто используются в государственной фармакопее XIV издания [2].

➤ При первом способе 1,0 г измельченного сырья и 10 мл спирта этилового различной концентрации (96%, 70%, 50%) нагревали на водяной бане 10 минут, затем полученное извлечение охлаждали и фильтровали.

➤ При втором способе использовали извлечение, которое готовится для количественного определения: навеска 1,0 г сырья заливается различными объемами (от 2,5 мл до 100 мл) спирта этилового (мы использовали 100 мл 70% этого растворителя) и экстрагируется либо до полного истощения сырья, либо до наступления равновесия (мы использовали экстракцию до наступления равновесия). Далее извлечение охлаждали и фильтровали [2].

Для хроматографического исследования использовали пластинки «Sorbfil» со слоем силикагеля различных серий и на различных основах: алюминиевой и полиэтилентерефталатной. Исследуемые извлечения наносили на пластинки «Sorbfil» с использованием микрошприца в объемах 10, 20, 30 и 50 мкл, а растворы стандартных веществ в количестве 10 мкл в виде полос 10x2 мм. Пластинки с нанесенными пробами высушивали, а затем помещали в камеру: сразу после внесения в нее системы растворителей,

а также после насыщения камеры в течение 30 минут и 60 минут.

При выборе стандартных веществ учитывали данные литературы по содержанию флавоноидов в латуке компасном, в результате чего были выбраны стандартные вещества: лютеолин (Фитопанацея), цинарозид (Фитопанацея), кверцетин (USP reference standard).

В качестве системы растворителей использовали:

- 1) этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода (70:15:15);
- 2) бензол – уксусная кислота – вода (4:1:2);
- 3) н. бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2).

В качестве проявляющего реактива применяли раствор алюминия хлорида 5% спиртовый. Пластинку после хроматографирования высушивали на воздухе, отмечали флюоресцирующие зоны флавоноидов в УФ-свете, а затем обрабатывали раствором алюминия хлорида 5% спиртовым, снова высушивали на воздухе и далее просматривали в УФ-свете, отмечали изменение окраски и появление новых пятен.

Для количественного определения флавоноидов в траве латука компасного нами была разработана методика спектрофотометрического определения, основанная на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом, при этом наблюдается bathochromный сдвиг полосы поглощения с 330-350 нм до 390-430 нм. При разработке методики использовали дифференциальный вариант спектрофотометрии, применяя в качестве раствора сравнения исходные извлечения без добавления к нему алюминия хлорида, что позволило нам исключить стадию очистки извлечения от сопутствующих веществ, содержащихся в извлечении и имеющих оптическую плотность в области максимума поглощения. При проведении реакции комплексообразования к пробам прибавляли уксусную кислоту для улучшения воспроизводимости результатов исследования.

Разработка методики включала в себя установление оптимальных условий экстракции флавоноидов, установление максимума поглощения комплекса флавоноидов травы латука компасного с алюминия хлоридом и изучение условий спектрофотометрирования образующегося комплекса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор способа экстрагирования для качественной идентификации показал, что и при первом способе нагревании на кипящей водяной бане 10 минут, и при втором получают примерно одинаковые хроматографические

профили, в связи с чем мы выбрали первый способ экстрагирования как менее затратный во времени.

При исследовании систем растворителей была выбрана система растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), так как при ее использовании наблюдается лучшее разделение зон флавоноидов на хроматограммах исследуемого извлечения.

Для исследования были использованы хроматографические пластинки «Sorbfil» на алюминиевой подложке. При исследовании наносимых объемов 10 мкл, 20 мкл, 30 мкл, 50 мкл установили, что лучшее разделение наблюдается при нанесении 10 мкл, поэтому в дальнейшем мы использовали этот объем. При исследовании влияния насыщенности камеры на разделение флавоноидов установлено, что лучше разделяются флавоноиды при насыщении камеры, а вот время насыщения – 30 мин и 60 мин – значения не имеет.

Для установления хроматографического профиля было исследовано 5 образцов травы латука компасного и выявлены 3 основные зоны, которые по значению R_f , флюоресценции соответствовали лютеолин-7-глюкозиду (цинарозид), и две зоны голубого цвета, отнесенные к гидроксикоричным кислотам. В связи с чем в качестве стандартного вещества выбран лютеолин-7-глюкозид (цинарозид).

Зоны, которые соответствовали лютеолину и кверцетину, были слабовыражены и присутствовали не на всех хроматограммах. Поэтому мы решили стандартные образцы лютеолина и кверцетина не включать в раствор сравнения для идентификации флавоноидов методом тонкослойной хроматографии.

В качестве проявляющего реактива использовали раствор алюминия хлорида спиртовый 5%. Хроматографическую пластинку после хроматографирования, высушивания и просмотра в УФ-свете обрабатывали проявляющим реактивом, высушивали на воздухе и снова просматривали в УФ-свете.

Валидацию разработанной методики идентификации флавоноидных соединений проводили по таким характеристикам, как воспроизводимость, робастность и специфичность [5].

Воспроизводимость методики определяли сравнением хроматографических профилей исследуемых образцов латука, полученных на пластинках различных серий двумя анализаторами и в разные дни. Результаты проведенного исследования показали, что хроматографические профили, полученные в описанных условиях, были идентичными по значению R_f , последовательности расположения зон, их размеру и интенсивности окраски.

При изучении специфичности сравнивали хроматографические профили исследуемых извлечений из сырья с зонами вещества – стандарта. При этом было установлено, что выбранное стандартное вещество может быть использовано для стандартизации сырья латука, так как расположение его зоны охватывает среднюю часть хроматографической пластинки, что позволит объективно описывать расположение зон флавоноидов относительно зоны стандарта.

Робастность изучали по определению влияния насыщенности хроматографической камеры на разделение зон флавоноидов. Хроматографические пластинки с нанесенными извлечениями помещали в ненасыщенную камеру, а также в камеры, насыщенные в течение 30 минут и 60 минут, и сравнивали полученные результаты. При этом установили, что лучшие результаты наблюдаются в насыщенной камере, а время насыщения не имеет значения, в связи с чем в дальнейшем использован показатель насыщения камеры в течение 30 минут.

Таким образом, полученные результаты позволили разработать методику идентификации флавоноидов в траве латука компасного.

Методика идентификации. Около 1,0 г измельченного до размера частиц 1 мм сырья помещают в колбу со шлифом, прибавляют 10 мл спирта этилового 96%, соединяют колбу с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 минут. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры и полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (исследуемое извлечение).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флюоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10x15 см наносят 10 мкл исследуемого извлечения в виде полосы 10 мм x 2 мм и рядом – 10 мкл раствора стандартного образца лютеолин-7-глюкозида (цинарозида). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру со смесью растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), насыщенную в течение 30 минут, и хроматографируют восходящим способом. После прохождения растворителей 80-90% длины пластинки, ее вынимают из камеры, высушивают в вытяжном шкафу и просматривают в УФ-свете, отмечая зоны адсорбции коричневого и темно-желтого цвета.

На хроматограмме исследуемого извлечения должна быть видна зона адсорбции коричневого цвета на уровне лютеолин-7-глюкозида.

Далее хроматографическую пластинку обрабатывают алюминия хлорида раствором спиртовым 5%, нагревают при 100-105°C в сушильном шкафу в течение 2-3 минут и просматривают в дневном и УФ-свете.

На хроматограмме исследуемого извлечения должна быть видна зона желтого цвета, а в УФ-свете также зона с флуоресценцией желтого цвета.

При разработке методики количественного определения флавоноидов на первом этапе был установлен максимум поглощения водно-спиртового извлечения из травы латука с алюминия хлоридом (экстрагент 70% спирт этиловый), который находится при длине волны 395 нм и в сравнении со стандартными веществами флавоноидов совпадает с максимумом поглощения цинарозида с алюминия хлоридом, из чего можно сделать заключение, что длина волн 395 нм может быть использована для спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного в пересчете на цинарозид, что и было сделано в дальнейшем. Расчет содержания флавоноидов вели с использованием удельного показателя поглощения цинарозида с алюминия хлоридом, который равен 345.

Следующим этапом разработки спектрофотометрической методики было изучение количественной экстракции флавоноидов для определения оптимальных условий их экстрагирования. При этом были изучены: дисперсность сырья, природа экстрагента, время экстрагирования. Для чего высушенную траву латука компасного при влажности 13% измельчали, просеивали через сито с размером отверстий 1 мм, 2 мм, 3 мм. В результате отметили, что наибольший выход флавоноидов у травы латука компасного (1,22±0,05%) достигается при степени измельчения 1 мм (таблица 1).

При изучении влияния экстрагента (вода, спирт этиловый различных концентраций) на полноту извлечения флавоноидов установлено, что при увеличении концентрации спирта этилового экстрагирующая способность флавоноидов при использовании в качестве экстрагента 70% спирта этилового составила 1,22±0,06%. Однако применение спирта этилового 96% в качестве экстрагента не обеспечивало хорошей набухаемости сырья, уменьшало проникновение его внутрь клеток сырья, а также уменьшало десорбцию экстрагируемых веществ, в связи с чем содержание флавоноидов при этом составило только 0,66±0,03%. Таким образом, в качестве экстрагента флавоноидов нами предложен спирт этиловый 70%. Для установления времени экстрагирования использовали экстракцию до наступления равновесия в течение 30, 45, 60 минут. Результат проводимого эксперимента позволил установить, что в системе «сырье – спирт этиловый 70%» динамическое равновесие наступает уже при экстрагировании в течение 30 минут (1,20±0,05%) (таблица 2).

Таблица 1
Table 1Условия экстракции флавоноидов из травы латука компасного
Conditions for the extraction of flavonoids from the herb of prickly lettuce

Параметры экстрагирования Extraction parameters	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и цинарозид, % The amount of flavonoids in terms of absolutely dry raw materials and cynaroside, %
Измельченность сырья, мм: The grinding degree of raw materials, mm:	
1	1.22±0.05
2	1.10±0.05
3	1.06±0.04
Используемый экстрагент: Extractant used:	
вода очищенная purified water	0.80±0.03
30% спирт этиловый 30% ethyl alcohol	0.92±0.04
50% спирт этиловый 50% ethyl alcohol	0.85±0.04
70% спирт этиловый 70% ethyl alcohol	1.22±0.06
96% спирт этиловый 96% ethyl alcohol	0.66±0.03
Время экстрагирования, мин (соотношение: сырье – экстрагент – (1:100), экстрагент – спирт этиловый (70%)): Extraction time, min (ratio: raw material – extractant – (1:100), extractant – ethyl alcohol (70%)):	
30	1.20±0.05
45	1.22±0.06
60	1.21±0.05

Таблица 2
Table 2Условия спектрофотометрирования
комплексов флавоноидов из травы латука компасного с алюминия хлоридом
Conditions for spectrophotometry of flavonoids complexes from the herb of prickly lettuce with aluminum chloride

Концентрация и объем алюминия хлорида для реакции комплексообразования Concentration and volume of aluminum chloride for reaction of complexation	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и цинарозид, % Amount of flavonoids in terms of absolutely dry raw materials and cynaroside, %
Концентрация алюминия хлорида раствора, %: Concentration of aluminum chloride solution, %:	
1	0.97±0.04
2	0.97±0.04
3	1.00±0.04
4	1.02±0.04
5	1.22±0.06
Объем раствора алюминия хлорида 5%, мл: Volume of aluminum chloride solution 5%, ml:	
1	1.00±0.04
2	0.93±0.04
3	1.22±0.05
4	1.21±0.05

Метрологическая характеристика
методики спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного
Metrological characteristic of spectrophotometric determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce

N	f	\bar{X}	S^2	S	P, %	X	$\epsilon, \%$
6	5	1.04	0.00044	0.02098	95	0.05	4.80
6	5	1.58	0.00065	0.0255	95	0.07	4.43

Примечание: N – объем выборки; f – число степеней свободы; \bar{X} – среднее арифметическое; S^2 – дисперсия; S – стандартное отклонение; P, % – доверительная вероятность; X – вычисленные значения; $\epsilon, \%$ – относительная ошибка.

Note: N – sample size; f – number of degrees of freedom; \bar{X} – arithmetic mean; S^2 – dispersion; S – standard deviation; P, % – confidence probability; X – calculated values of variables; $\epsilon, \%$ – relative error.

Дальнейшее нагревание не приводит к изменению выхода флавоноидов, но зато в извлечение будут больше экстрагироваться балластные вещества. В связи с чем нами установлено время экстракции 30 минут.

На следующем этапе нами были изучены условия спектрофотометрирования получаемых комплексов с алюминия хлоридом (таблица 3).

Изучения условий спектрофотометрирования показало, что оптимальной концентрацией алюминия хлорида является 5% раствор в объеме 3 мл.

Результаты проведенных экспериментов позволили разработать методику спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в траве латука компасного:

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 1 мм, помещают в коническую колбу со шлифом объемом 250 мл, приливают 100 мл спирта этилового 70% и взвешивают на весах с погрешностью $\pm 0,01$. Колбу соединяют с обратным холодильником и нагревают на водяной бане в течение 30 минут при периодическом встряхивании для смывания частиц сырья со стенок. Далее колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и, если возникает необходимость, доводят спиртом этиловым 70% до первоначальной массы. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный спиртом этиловым 70%, при этом отбрасывают первые 10 мл фильтрата (раствор А).

Исследуемое извлечение (раствор А) в объеме 3 мл помещают в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляют 3 мл алюминия хлорида 5% раствора в спирте этиловом 70% и через 10 минут 1 мл кислоты уксусной раствора 3%. Объем раствора доводят спиртом этиловым 70% до метки, перемешивают и оставляют на 30 минут (раствор Б).

Оптическую плотность исследуемого раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 3 мл исследуемого извлечения (раствор А), 1 мл кислоты уксусной раствора 3% и доведенный спиртом этиловым 70% до 25 мл в мерной колбе.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид (цинарозид) и абсолютно сухое сырье в процентах (x) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A^{1\% / 1 \text{ см}} \cdot a \cdot 3 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность исследуемого извлечения (раствора Б);

$A^{1\% / 1 \text{ см}}$ – удельный показатель поглощения лютеолин-7-глюкозида (цинарозида) с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70% при длине волны 395 нм, равный 345 нм;

a – масса навески сырья, г;

W – влажность сырья, %.

По разработанной методике определено содержание флавоноидов в траве латука компасного.

Содержание флавоноидов в траве латука компасного колебалось от $1,04\% \pm 0,05\%$ до $1,58 \pm 0,07\%$, ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 4,80%.

Таким образом, впервые разработана методика идентификации флавоноидов в траве латука компасного методом тонкослойной хроматографии, в качестве стандартного вещества выделены лютеолин-7-глюкозид (цинарозид).

Разработана методика спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного в пересчете на цинарозид. Установлены оптимальные условия экстракции флавоноидов: размер частиц сырья – 1 мм, время из-

влечения – 45 минут, экстрагент – 70% спирт этиловый.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. 4. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека, 2018. 1833 с. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Vol. 4. Moscow: Federal electronic medical library, 2018. 1833 p.] URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 2. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека, 2015. 1003 с. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XII edition. Vol. 4. Moscow: Federal electronic medical library, 2015. 1003 p.] URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea13.php>
3. Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. *Иллюстрированный определитель растений Средней России*. Том. 3. *Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные)*. Москва: Товарищество научных изданий КМК, Институт технологических исследований, 2004. 520 с. [Gubanov I.A., Kiseleva K.V., Novikov V.S., Tikhomirov V.N. *Illustrated determinant of plants in Central Russia*. Vol. 3. *Angiosperms (dicotyledons: eleuthero-petalous)*. Moscow: Association of scientific publications KMK, Institute of technological research, 2004. 520 p. (in Russ.)]
4. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). *Фармация*. 2008; 4:3-10. [ICH manual "Validation of analytical techniques. Content and methodology" Q2 (R1). *Farmatsiya*. 2008; 4:3-10 (in Russ.)]
5. *Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность*. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды Echinops-Youngia. под ред. А.Л. Буданцев. Санкт-Петербург, Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. 312 с. [*Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity*. Vol. 5. *Family Asteraceae (Compositae)*. Part 2. *Genera Echinops-Youngia*. A. L. Budantsev, editor. St. Petersburg, Moscow: Association of scientific publications KMK, 2013. 312 p. (in Russ.)]
6. Сакаяня Е.И., Бунатян Н.Д., Сакаева И.В., Лякина М.Н., Шемерянкина Т.Б., Постоюк Н.А., Рукавицына Н.П. Современные подходы к структуре построения фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье. *Фармация*. 2015; 4:9-11 [Sakanyan E.I., Bunatyan N.D., Sakayeva I.V., Lyakina M.N., Shemeryankina T.B., Postoyuk N.A., Rukavitsyna N.P. Current approaches to the pattern of creation of pharmacopoeial articles on raw medicinal plant materials. *Farmatsiya*. 2015; 4:9-11 (in Russ.)]
7. *Флора СССР*. Т. XXIX. Москва, Ленинград: Академия Наук СССР, 1964. 414 с. [Flora of the USSR. T. XXIX. Moscow, Leningrad: USSR Academy of Sciences, 1964. 414 p. (in Russ.)]
8. Ahmad F., Khan R.A. Study of analgetic and inflammatory activity from plant extract of *Lactuca scariola* and *Artemisia absinthium*. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 1992; 5:111-114.
9. Elsharkawy E., Alshathly M. Anticancer activity of *Lactuca serriola* growing under dry desert condition of Northern Region of Saudi Arabica. *Journal of Natural Science Research*. 2013; 3(2):5-16.
10. Janbaz K.H., Latif M.F., Sagib F., Imran I., Zia-Ul-Haq M., De Feo V. Pharmacological effects of *Lactuca serriola* L. in experimental model of gastrointestinal, respiratory and vascular ailments. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013; 2013:304394. DOI: 10.1155/2013/304394.
11. Kim D.K. Antioxidative components from the aerial parts of *Lactuca scariola* L. *Arch Pharm Res*. 2001; 24(5):427-430.
12. Marco J.A., Sanz J.F., Albiach R.A sesquiterpene ester from *Lactuca serriola*. *Phytochemistry*. 1992; 31(7):2539-2540.
13. Seaman F.C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *The botanical review*. 1982; 48(2): 491-492.
14. The plant list: [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-114649>
15. Urmila G.H., Rao B.G., Satyanarayana T. Physicochemical and preliminary phytochemical screening for medicinal plants. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*. 2013; 2(4):1738-1742.

Поступила в редакцию 24.04.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Бубенчиков Р.А., Кораблева Т.В. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного (*Lactuca Serriola* L.). *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):87-94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/10.

DEVELOPING THE METHODS OF IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF PRICKLY LETTUCE (*LACTUCA SERRIOLA* L.)

© Bubenchikov R.A., Korableva T.V.

Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

The article is devoted to standardization of raw materials of prickly lettuce or compass plant of *Asteraceae* family. Prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) is an annual or biennial herbaceous plant, and is widely spread in Central Black Earth region.

Objective. The aim of the work was to develop the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce.

Materials and methods. The investigation object was the herb of prickly lettuce stored in its blooming period in 2017-2018. The quality identification of flavonoids is based on thin-layer chromatography; the quantitative determination is based on spectrophotometric method.

Results. When conducting quality identification the following conditions were established: Sorbfil plates on an aluminum substrate, the volume of application of the studied extraction – 10 µl; mobile phase: n. butanol-acetic acid-water (4:1:2), the standard substance is luteolin-7-glucoside (cynaroside); detection: treatment with 5% solution of aluminum chloride, viewing in UV light before and after treatment with aluminum chloride. Validation of the method was carried out according to the following parameters: specificity, robustness, reproducibility. For the quantitative determination of flavonoids, a spectrophotometric method of determination in terms of cynaroside, based on the reaction of complexation of flavonoids with aluminum chloride, has been developed. The optimal conditions for extracting were determined: the degree of grinding of raw material – 1 mm, the extractant – 70% ethyl alcohol, the extraction time – 30 minutes.

Conclusion. The procedure has been developed for the quality identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce. The content of flavonoids ranged from $1.04 \pm 0.05\%$ to $1.58 \pm 0.07\%$. The error of a single determination with a probability of 95% does not exceed 4.80%.

Key words: prickly lettuce, compass plant, *Asteraceae*, flavonoids, standardization, chromatography, spectrophotometry.

Bubenchikov Roman A. – Doctor of Pharmacy, Associate Professor of Department of Pharmacognosy and Botany, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

Korableva Tatyana V. – Post-Graduate Student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 24.04.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Bubenchikov R.A., Korableva T.V. Developing the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.). *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019; (2):87-94. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/10.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗОЛИРОВАНИЯ ЭФАВИРЕНЗА ИЗ МОЧИ

© Тютрина В.А.¹, Чмелевская Н.В.², Илларионова Е.А.¹¹Иркутский государственный медицинский университет (ИГМУ)

Россия, 664003, Иркутская область, г. Иркутск, ул. Красного восстания, д. 1

²Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы (ИОБСМЭ)

Россия, 664022, Иркутская область, г. Иркутск, бульвар Гагарина, д. 4

Цель исследования – изучить влияние различных факторов на экстрагирование эфавиренза из растворов и разработать методику его изолирования из мочи, обнаружения и количественного определения.

Материалы и методы. Анализировались отвечающие требованиям нормативных документов фармацевтическая субстанция-порошок и таблетки эфавиренза. Для разработки методики изолирования эфавиренза из биологических объектов использовали методы жидкость-жидкостной экстракции и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Результаты экспериментальных исследований статистически обработаны с применением пакета программ для Windows XP (Microsoft Excel), и с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности $p < 0,05$.

Результаты. С целью оптимизации методики были изучены условия, при которых достигается наибольший выход эфавиренза: органические растворители – эфир диэтиловый, дихлорметан; значение pH – для эфира диэтилового pH=3, для дихлорметана pH=2; электролит, проявляющий высаливающее действие – натрия хлорида раствор 20% (при изолировании эфиром диэтиловым), натрия хлорида насыщенный раствор (при изолировании дихлорметаном); кратность экстракции – трехкратное экстрагирование; время экстракции – в течение трех минут эфиром диэтиловым и в течение семи минут дихлорметаном.

Заключение. Полученные результаты подтверждают пригодность методики, следовательно, она может быть рекомендована для химико-токсикологического и судебно-химического анализа исследуемого лекарственного вещества.

Ключевые слова: судебно-химический анализ, химико-токсикологический анализ, изолирование, эфавиренз, количественное определение, обнаружение.

Тютрина Вера Александровна – аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии, ИГМУ, г. Иркутск. E-mail: ultr4vox@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Чмелевская Наталья Владимировна – канд. фарм. наук, зав. судебно-химическим отделением, ИОБСМЭ, г. Иркутск

Илларионова Елена Анатольевна – д-р. хим. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, ИГМУ, г. Иркутск. E-mail: illelena24@rambler.ru

В настоящее время в мире существует напряженная ситуация по распространению ВИЧ-инфекции. Эфавиренз – один из наиболее часто используемых антиретровирусных препаратов [5, 8]. Резистентность к антиретровирусным препаратам вируса иммунодефицита человека связана с его высокой мутагенностью, позволяющей видоизменять РНК и производить устойчивые к их действию штаммы. Поэтому для воздействия на различные стадии развития вируса и предотвращения возникновения устойчивости высокоактивная антиретровирусная терапия основывается на комбинации 3-4 лекарственных средств с различными механизмами действия [3].

Так как эфавиренз назначается в комплексной терапии с несколькими антиретровирусными препаратами и препаратами других фармакологических групп длительное время, появляется опасность возникновения острых отравлений. Кроме того, одним из главных побочных эффектов является его тяжелое действие на центральную нервную систему [6], что может привести к ошибочному приему дозировки, пре-

вышающей требуемую, а также к намеренному приему более высокой дозы с суицидальной целью.

Проведенный анализ литературы и нормативных документов по контролю качества эфавиренза [4, 7, 9, 10] показал, что рекомендованным методом количественного определения исследуемого лекарственного средства является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Несмотря на то, что эфавиренз широко применяется в комплексной антиретровирусной терапии, исследование литературы показало, что в ней отсутствуют данные о его химико-токсикологическом исследовании. Это означает, что разработка методики изолирования из объектов биологического происхождения, обнаружения и количественного определения эфавиренза является важной задачей.

Цель исследования – изучить влияние различных факторов на степень экстракции эфавиренза из растворов и разработать методику его изолирования из мочи, обнаружения и количественного определения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аналізу подвергались отвечающие требованиям нормативных документов фармацевтическая субстанция-порошок и таблетки эфавиренза. Применяемые реактивы: вода очищенная, спирт 95%, хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М (приготовлен из фиксаля) и натрия гидроксида раствор 0,1 М (приготовлен из фиксаля). Показатель величины рН контролировался универсальным ионометром ИТ-1101 (ООО «Измерительная техника», г. Москва). Результаты экспериментальных исследований статистически обработаны с применением пакета программ для Windows XP (Microsoft Excel) и использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности $p < 0,05$ [2].

Условия экстракции эфавиренза из модельного образца мочи: 25 мл мочи, содержащей раствор таблеток эфавиренза в спирте 95%, настаивается при комнатной температуре в колбе вместимостью 100 мл в течение 24 часов и периодическом взбалтывании на приборе Шейкер S-3.08L (фирмы ELMi). 1 мл (для 0,2 г вещества) или 0,5 мл (для 1,0 и 2,0 г вещества) модельного образца мочи помещается в пробирку, рН среды доводится до рН=3 или рН=2 хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М, соответственно, натрия хлорида раствор 20%/натрия хлорида насыщенного раствор 1 мл и эфир диэтиловый/дихлорметан 3 мл. Содержимое пробирки помещается в делительную воронку и взбалтывается в течение 3 мин/7 мин. Экстракция проводится трижды по 3 мл эфиром диэтиловым/дихлорметаном. Слой экстрагента отделяется после разделения фаз, извлечения объединяются. Растворители удаляются при комнатной температуре. Полученный после испарения экстрагента сухой остаток растворяется в 10 мл спирта 95% и доводится до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл этим же растворителем. Аликвотная часть полученного раствора 2 мл (для 0,2 г вещества) или 1 мл (для 1,0 г и 2,0 г вещества) переносится в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводится до объема 100 мл натрия гидроксида раствором 0,1 М. Степень экстракции эфавиренза определяется методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на отечественном хроматографе «Милихром А-02». Использовался обращенно-фазный вариант хроматографии на колонке 75x2 мм, ProntoSIL-120-5-C18 AQ, подвижная фаза – элюент А – 0,2 М лития перхлорат – хлорной кислоты раствор 0,005 М (рН 2,8), элюент Б – MeCN, длина волны – 210 нм, скорость потока – 100 мкл/мин, объем пробы – 2 мкл, темпера-

тура термостата колонки – 40°C, градиент – 3700 мкл 5% – 70% Б.

Приготовление раствора РСО эфавиренза: точная масса субстанции эфавиренза (около 0,0500 г) помещается в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяется в 80 мл метанола, доводится объем раствора до метки, перемешивается. Полученный раствор вводится в колонку в объеме 2 мкл.

Для разработки методики изолирования эфавиренза из биологических объектов использовали метод жидкость-жидкостной экстракции. Было изучено влияние нескольких факторов на степень экстракции эфавиренза из растворов: природы органического растворителя, рН среды, присутствия электролита, времени и кратности экстракции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Так как эфавиренз ((4S)-6-хлор-4-(циклопропилэтинил)-1,4-дигидро-4-(трифторметил)-2Н-3,1-бензоксазин-2-он) по химической структуре относится к производным бензоксазина, он обладает слабыми кислотными свойствами и характеризуется гидрофобностью за счет наличия трех атомов фтора и других фрагментов структуры. Изучение растворимости эфавиренза показало, что это лекарственное вещество хорошо растворяется в следующих органических растворителях: хлороформ, дихлорметан, эфир диэтиловый, этилацетат, толуол, поэтому эти растворители выбраны для изучения процесса экстракции.

В зависимости от рН раствора эфавиренз будет находиться в диссоциированном или молекулярном состоянии, что приведет к увеличению или уменьшению степени экстракции в органический растворитель. рН растворов изменяли от 2 до 12 путем добавления хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М или аммиака раствора 10%.

На рис. 1 представлена графическая зависимость степени извлечения эфавиренза из раствора в зависимости от природы органического растворителя и рН среды.

Установлено, что наибольшую извлекающую способность проявили эфир диэтиловый и дихлорметан, которые экстрагируют в максимальном количестве эфавиренз при рН 3 и 2 соответственно. Степень извлечения эфавиренза из растворов составляет $81,3 \pm 0,53\%$ эфиром диэтиловым при рН 3 и $80,8 \pm 0,43\%$ дихлорметаном при рН 2.

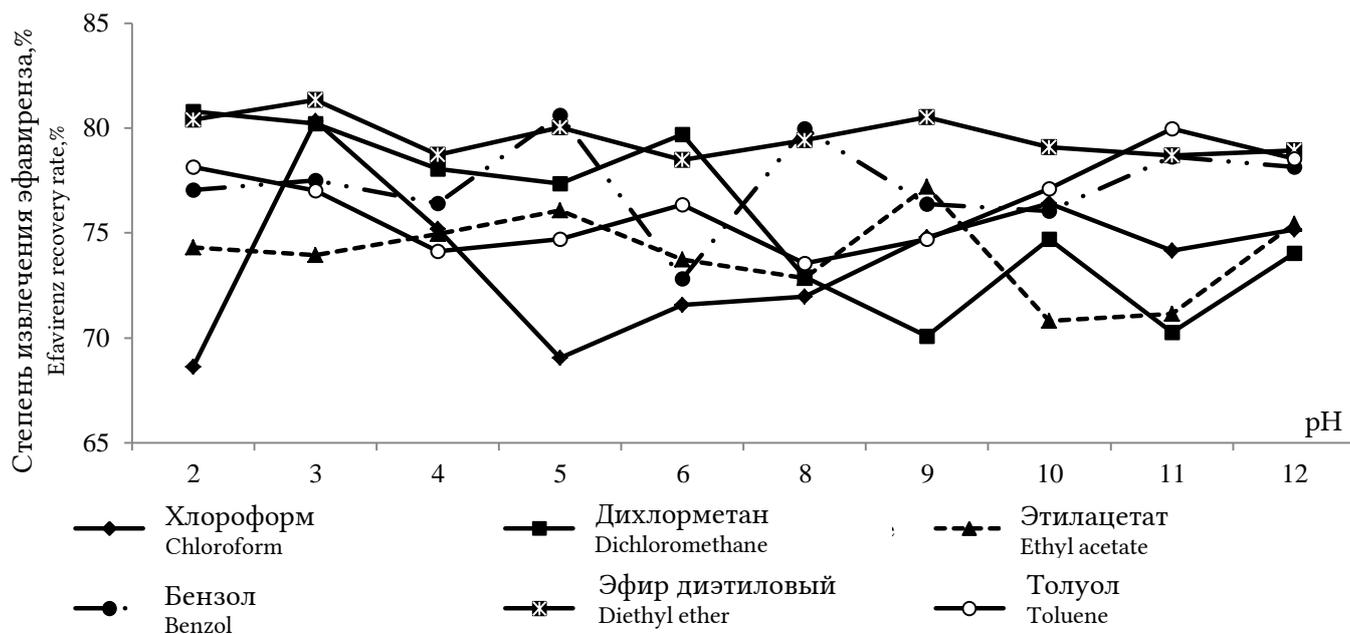


Рис. 1. График зависимости степени извлечения эфавиренза из растворов от органического растворителя и pH среды.

Fig.1. Graph of the degree of extraction of Efavirenz from solutions of an organic solvent and pH.

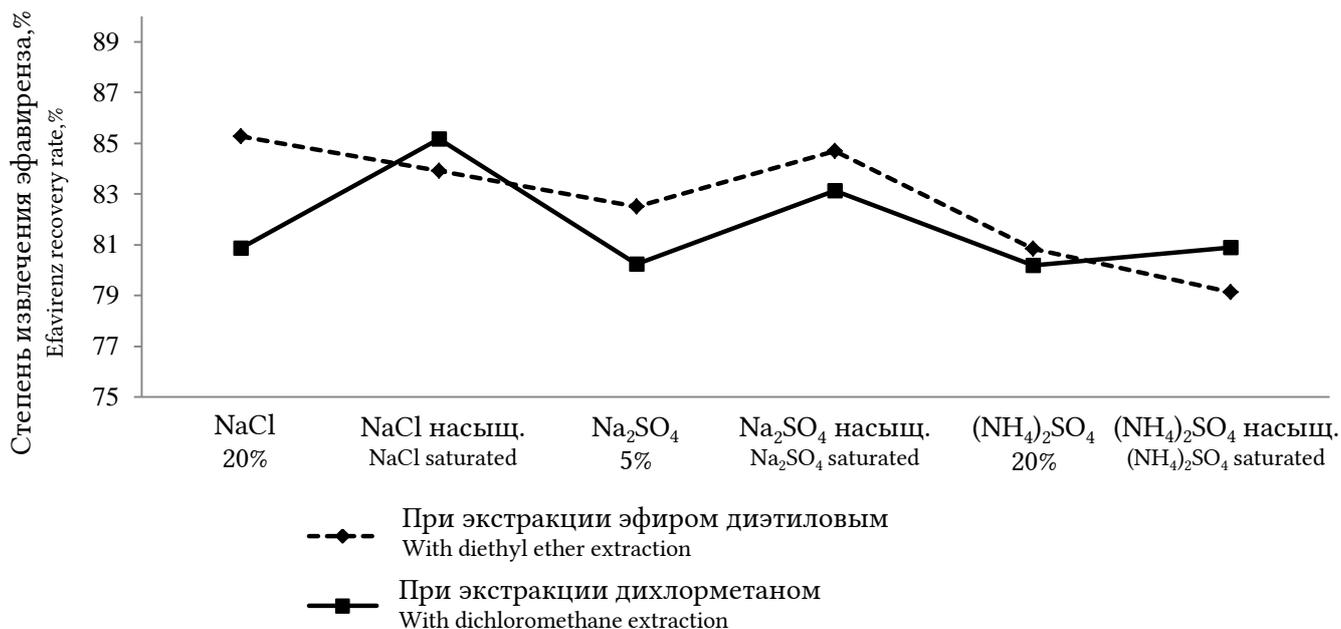


Рис. 2. График зависимости степени извлечения эфавиренза из растворов от добавляемого электролита.

Fig. 2. Graph of the degree of extraction of Efavirenz from solutions of the added electrolyte.

Следующим этапом экспериментальных исследований являлось изучение влияния электролита на степень извлечения эфавиренза из растворов (рис. 2).

Согласно полученным данным установлено, что добавление натрия хлорида раствора 20% приводит к повышению количества извлекаемого вещества при применении эфира диэтилового до $85,27 \pm 0,32\%$. Натрия хлорида насыщенный раствор улучшает экстрагируемость эфавиренза при применении в качестве органическо-

го растворителя дихлорметана до $85,16 \pm 0,26\%$. Аммония сульфата насыщенный раствор проявил высаливающее действие в случае экстракции эфиром диэтиловым, а при экстракции дихлорметаном высаливателем является аммония сульфата раствор 20%.

Дальнейшим этапом в разработке методики стало определение влияния на степень извлечения эфавиренза из растворов времени и кратности экстрагирования (табл. 1, 2).

Таблица 1
Table 1

Результаты определения степени извлечения эфавиренза из растворов в зависимости от времени экстракции эфиром диэтиловым и дихлорметаном

The results of determining the degree of extraction of Efavirenz from solutions, depending on the time of extraction with ether, diethyl and dichloromethane

Время, мин Time, min	Степень извлечения эфиром диэтиловым, % The degree of extraction of ether diethyl, %	Степень извлечения дихлорметаном, % The degree of extraction with dichloromethane, %
3	85.27±0.32	85.16±0.26
5	84.83±0.13	86.86±0.12
7	85.90±0.71	88.21±0.14

Таблица 2
Table 2

Результаты определения степени извлечения эфавиренза из растворов в зависимости от кратности экстракции эфиром диэтиловым в течение трех минут и дихлорметаном в течение семи минут

The results of determining the degree of extraction of Efavirenz from solutions, depending on the frequency of extraction with diethyl ether for three minutes and dichloromethane for seven minutes

Кратность Multiplicity	Степень извлечения эфиром диэтиловым, % The degree of extraction with ether diethyl, %	Степень извлечения дихлорметаном, % The degree of extraction with dichloromethane, %
Однократная Occurring once	85.27±0.32	88.21±0.14
Двукратная Double	88.00±0.11	87.94±0.23
Трехкратная Threefold	89.17±0.18	91.58±0.10

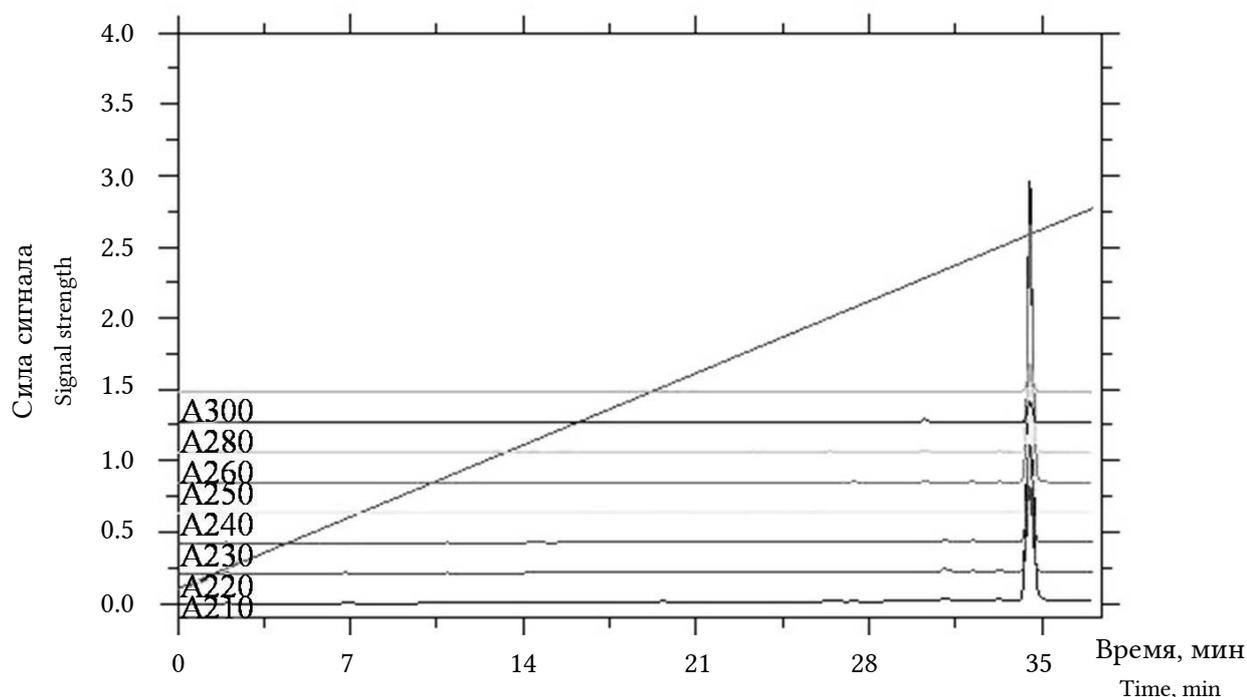


Рис. 3. Хроматограмма стандартного раствора эфавиренза с концентрацией 0,5 мг/мл в метаноле. Пик 1 – эфавиренз ($T_R = 3,449$ мкл).

Fig. 3. Chromatogram of the standard solution of Efavirenz with a concentration of 0.5 mg / ml in methanol. Peak 1 - Efavirenz ($T_R = 3,449$ μ l).

Таблица 3
Table 3Определение степени извлечения эфавиренза эфиром диэтиловым
из модельного образца мочи методом ВЭЖХ

Determination of the degree of extraction of Efavirenz with diethyl ether from a model urine sample by HPLC

Добавлено исследуемого вещества, г Added test substance, g	n	f	\bar{X}	S^2	S	S_x	ΔX	E, %	CV
0.2	6	5	76.35	0.14	0.37	0.15	0.39	0.51	0.49
1.0	6	5	74.59	0.21	0.45	0.19	0.48	0.64	0.60
2.0	6	5	84.46	0.25	0.50	0.20	0.52	0.62	0.59

Примечание: здесь и далее: n – объем выборки, f – число степеней свободы, \bar{X} – среднее значение результата, S^2 – дисперсия, S – стандартное отклонение, S_x – стандартное отклонение среднего результата, ΔX – полуширина доверительного интервала величины, E, % – относительная ошибка среднего результата, CV – коэффициент вариации.

Note: hereafter: n – sample size, f – number of degrees of freedom, \bar{X} – average result, S^2 – dispersion, S – standard deviation, S_x – standard deviation of the average result, ΔX – half-width of the confidence interval of magnitude, E, % – relative error of the average result, CV – coefficient of variation.

Таблица 4
Table 4Определение степени извлечения эфавиренза дихлорметаном
из модельного образца мочи методом ВЭЖХ

Determination of the degree of Efavirenz extraction with dichloromethane from a model urine sample by HPLC

Добавлено исследуемого вещества, г Added test substance, g	n	f	\bar{X}	S^2	S	S_x	ΔX	E, %	CV
0.2	6	5	81.67	0.39	0.62	0.25	0.65	0.80	0.76
1.0	6	5	75.27	0.31	0.56	0.23	0.59	0.78	0.74
2.0	6	5	84.29	0.24	0.49	0.20	0.51	0.60	0.58

Экспериментально доказано, что наилучшие результаты достигнуты при трехкратном экстрагировании эфиром диэтиловым в течение 3 минут и дихлорметаном в течение 7 минут. За этот промежуток времени большинство молекул эфавиренза переходит в органическую фазу, а данное количество ступеней экстракции за счет поступления свежих порций растворителей обеспечивает наибольшую полноту извлечения вещества.

Таким образом, применяя предложенные оптимальные условия экстрагирования, была разработана методика изолирования из модельного образца мочи, обнаружения и количественного определения эфавиренза.

Обнаружение эфавиренза проводили методом ВЭЖХ по времени удерживания, которое соответствует 34,49 мин (рис. 3).

Полученные данные определения степени изолирования исследуемого вещества из модельного образца мочи представлены в таблицах 3 и 4.

Как свидетельствуют полученные данные, определено, что из модельного образца мочи при экстракции эфиром диэтиловым изолируется от 73,94% до 85,21% эфавиренза и от 74,45% до 84,94% при извлечении дихлорметаном.

Валидационная оценка методики, проведенная по показателям прецизионности и правильности [1], доказала пригодность разработанной методики для анализа.

Таким образом, было изучено влияние различных факторов на извлечение эфавиренза из растворов методом жидкость-жидкостной экстракции (органический растворитель, pH среды, электролит, время и кратность). Разработана методика изолирования, обнаружения и количественного определения эфавиренза из модельного образца мочи методом жидкость-жидкостной экстракции и ВЭЖХ. Проведен валидационный анализ предложенной методики. Полученные результаты подтверждают ее пригодность для анализа, следовательно, разработанная методика позволяет получить достаточно надежные и воспроизводимые результаты для предполагаемой области применения и может быть рекомендована для химико-токсикологического и судебно-химического анализа.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации [11] и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266 и одобрено этическим комитетом ИГМУ. До включения в исследование все здоровые добровольцы подписали информированное согласие установленной формы (протокол № 2 от 17.09.2018 г.).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетенева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. *Методические рекомендации по валидации аналитических методов, используемых в судебно-химическом и токсикологическом анализе биологического материала*. Москва: Российский центр судебно-медицинской экспертизы, 2014. 52 с. [Barsegyan S.S., Salomatin E.M., Pleteneva T.V., Maksimova T.V., Dolinkin A.O. *Guidelines for validation of analytical techniques used in forensic chemical and chemical Toxicological analysis of biological material*. Moscow: Russian center of forensic medical examination, 2014. 52 p. (in Russ.)].
2. *Государственная фармакопея Российской Федерации*. XIII издание. Т. 1. Москва: Федеральная электронная медицинская библиотека, 2015. 1469 с. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Vol.1. Moscow: Federal electronic medical library, 2015. 1469 p. (in Russ.)].
3. Еременко Н.Н., Губенко А.И., Зебрев А.И., Лыскова И.В. Современные подходы в лечении ВИЧ-инфицированных больных. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2014;2:40-45 [Eremenko N.N., Gubenko A.I., Zebrev A.I., Lysikova I.V. Modern approaches to the treatment of HIV-positive patients. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2014;2:40-45 (in Russ.)].
4. *Нормативный документ ФС 000520-260313. Эфавиренз*. Москва, 2013. 15 с. [Normative document ФС 000520-260313. *Efavirenz*. Moscow, 2013. 15 p. (in Russ.)].
5. Прокофьева М.М., Кочетков С.Н., Прасолов В.С. Терапия ВИЧ-инфекции: методы и перспективы. *Acta Naturae (Русскоязычная версия)*. 2016; 8(4-31):26-36. [Prokofjeva M.M., Kochetkov S.N., Prassolov V.S. Therapy of HIV Infection: Current Approaches and Prospects. *Acta Naturae (English version)*. 2016; 8(4): 23-32]
6. Юрин О.Г., Ефремова О.С. Европейские и американские рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции. *Медицинский совет*. 2017; 4:67-72. [Yurin O.G., Efremova O.S. The European and American guidelines for treatment of HIV infection. *Meditsinsky sovet*. 2017; 4:67-72 (in Russ.)] DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-67-72.
7. Danilo C.G. Bedor, Jose H. de Souza Filho, Virna L.S. Ramos, Talita M. Gonçalves, Carlos E.M. de Sousa, Davi P. de Santana. A sensitive and robust Lc-Ms/Ms method with monolithic column and electrospray ionization for the quantitation of efavirenz in human plasma: Application to a bioequivalence study. *Química Nova*. 2011; 34(6):950-955 DOI: 10.1590/S0100-40422011000600007.
8. De Clercq E. Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): Past, Present, and Future. *Chem Biodivers*. 2004; 1(1):44-64. DOI: 10.1002/cbdv.200490012.
9. Hamrapurkar P., Phale M., Shah N. Quantitative Estimation of Efavirenz by High Performance Thin Layer Chromatography. *Journal of Young Pharmacists*. 2009; 1(4): 359-363. DOI: 10.4103/0975-1483.59328.
10. Srivastava P., Moorthy G.S., Gross R., Barrett J.S. Sensitive and Selective Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry Method for Quantitative Analysis of Efavirenz in Human Plasma. *PLoS One*. 2013; 8(6):e63305. DOI: 10.1371/journal.pone.0063305.
11. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013; 310(20):2191-2194. DOI: 10.1001/jama.2013.281053.

Поступила в редакцию 20.03.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Тютрина В.А., Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А. Разработка методики изолирования эфавиренза из мочи. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):95–101. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/11.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR ISOLATING EFAVIRENZ FROM A MODEL URINE MIXTURE

© Tyutrina V.A.¹, Chmelevskaya N.V.², Illarionova E.A.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ISMU)

1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, Irkutsk Region, 664003, Russian Federation

² Irkutsk Regional Bureau of Forensic Medical Expertise (IRBFME)

4, Gagarin Boulevard, Irkutsk, Irkutsk Region, 664022, Russian Federation

Objective: to study the effect of various factors on the extraction of Efavirenz from solutions and to develop a method for its isolation, detection and quantification from urine.

Materials and methods. Pharmaceutical substance-powder and Efavirenz tablets, which meet the requirements of regulatory documents, were analyzed. To develop a method for isolating Efavirenz from biological objects, liquid-liquid extraction and high-performance liquid chromatography (HPLC) were used. The results of experimental studies are statistically processed using the software package for Windows XP (Microsoft Excel) using Student's t-test. Differences were considered significant at a confidence level of $p < 0.05$.

Results. In order to optimize the methods, the conditions under which the highest yield of Efavirenz is achieved are studied: organic solvents – diethyl ether, dichloromethane; pH value - for diethyl ether pH = 3, for dichloromethane pH = 2; the electrolyte exhibiting a salting out effect is a sodium chloride solution of 20% (when isolated with diethyl ether), sodium chloride is a saturated solution (when isolated with dichloromethane); the multiplicity of extraction - triple extraction; extraction time - for three minutes with diethyl ether and for seven minutes with dichloromethane.

Conclusion. The obtained results confirm method suitability, therefore, the technique can be recommended for chemical-toxicological and forensic-chemical analysis of the studied medicinal substance.

Key words: forensic chemical analysis, analytical toxicology, sample preparation, Efavirenz, quantitation, detection.

Tyutrina Vera A. – Postgraduate Student of Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, ISMU, Irkutsk, Russian Federation. E-mail: ultr4vox@yandex.ru (correspondence author)

Chmelevskaya Natalia V. – PhD in Pharmaceutical Sciences, Head of the Forensic Chemistry Department, IRBFME, Irkutsk, Russian Federation.

Illarionova Elena A. – Doctor in Chemical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, ISMU, Irkutsk, Russian Federation. E-mail: illelena24@rambler.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association [11] and the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation", approved by Order of the Ministry of Health of Russia of 19.06.2003 № 266 and approved by the Ethical Committee of ISMU. Prior to inclusion in the trial, all healthy volunteers signed an informed consent form (Protocol № 2 of 17.09.2018).

Received 20.03.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Tyutrina V.A., Chmelevskaya N.V., Illarionova E.A. Development of a method for isolating Efavirenz from a model urine mixture. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):95–101. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/11.

ПРИМЕНЕНИЕ КЛАССИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИЗОЛИРОВАНИЯ
2-МЕТОКСИГИДРОКСИБЕНЗОЛА (ГВАЯКОЛА) ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА© Останин М.А.¹, Чернова А.П.², Шорманов В.К.¹, Елизарова М.К.³¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² Институт природных ресурсов Томского политехнического университета (ИПР ТПУ)

Россия, 634050, Томская область, г. Томск, проспект Ленина, д. 30

³ Ейский медицинский колледж (ЕМК),

Россия, 353680, Краснодарский край, г. Ейск, ул. Красная, д. 74/2

Цель исследования – изучение особенностей изолирования гваякола из биологического материала классическими методами.

Материалы и методы. Объект исследования – 2-метоксигидроксибензол (гваякол) (фирма «Fluka»), содержащий ≥98% основного вещества. Модели биологических матриц для приготовления искусственных смесей с гваяколом – ткани печени и почек. В качестве основного метода очистки рассмотрена жидкость-жидкостная экстракция. Для идентификации применены ТСХ, УФ-спектрофотометрия и ВЭЖХ. Оценка количественного содержания 2-метоксигидроксибензола в извлечениях проводилась методом УФ-спектрофотометрии.

Результаты. Проведены исследования по сравнительному изолированию 2-метоксигидроксибензола (гваякола) из биологического материала рядом классических методов: Стаса-Отто, А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и П. Валоа. Для идентификации изолируемого аналита использовали методы ТСХ, УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ. Количественную оценку выделяемого соединения проводили методом спектрофотометрии в УФ-области (аналитическая длина волны 277 нм). Предложен модифицированный вариант метода А.А. Васильевой, предусматривающий дополнительный этап экстракционной очистки выделяемого аналита, включающий перевод гваякола в виде ионизированной формы из хлороформного экстракта в водно-щелочной раствор (рН 12,5-13), подкисление водно-щелочного извлечения хлороводородной кислотой до рН 2-3 и экстракцию образовавшейся молекулярной формы гваякола в слой этилацетата.

Заключение. На основе предложенной модификации метода А.А. Васильевой разработана методика определения гваякола в тканях крупных органов. При содержании в биоматериале 0,01-0,2% гваякола методика позволяет определять $(33,99-34,62) \pm (5,84-7,35)$ % анализируемого вещества в тканях печени и $(34,87-35,73) \pm (5,66-6,97)$ % – в тканях почек.

Ключевые слова: 2-метоксигидроксибензол (гваякол), классические методы изолирования на основе настаивания, модификация метода А.А. Васильевой, экстракционная очистка аналита, идентификация и количественное определение в биоматериале, химико-токсикологический анализ.

Останин Максим Александрович – заочный аспирант кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-1984-5663. E-mail: m.a.ostanin@mail.ru

Чернова Анна Павловна – канд. хим. наук, доцент кафедры физической и аналитической химии, ИПР ТПУ, г. Томск. ORCID iD: 0000-0001-7002-492X. E-mail: apa2004@mail.ru

Шорманов Владимир Камбулатович – д-р. фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-8872-0691. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Елизарова Мадина Камбулатовна – канд. фарм. наук, преподаватель, ЕМК, г. Ейск. ORCID iD: 0000-0002-8944-4358. E-mail: goukkemk@mail.ru

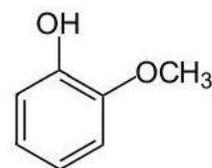
2-метоксигидроксибензол (в дальнейшем гваякол) (синонимы: 1-гидрокси-2-метоксибензол, 2-метоксифенол, 2-гидроксианизол, орто-гидроксианизол) – это биологически активное соединение, которое применяется в медицине как мягкое анестезирующее, антисептическое и отхаркивающее средство, является компонентом пломбировочных стоматологических материалов [4, 14, 16].

В ветеринарии гваякол используется при хронических воспалительных процессах дыхательных путей и гастроэнтеритах [16].

Данное соединение также является продуктом ряда синтезов душистых и лекар-

ственных средств и обладает способностью ингибировать термическую полимеризацию стирола [8].

Структурная формула гваякола имеет следующий вид:



Его брутто-формула – $C_7H_8O_2$, молярная масса – 124,13 а.е.м.

Гваякол представляет собой бесцветные кристаллы, темнеющие на воздухе и на свету, или бесцветную с кремоватым оттенком жидкость с сильным своеобразным ароматическим запахом и жгучим вкусом. Он ограниченно растворим в воде (до 1,7% при 17°C), значительно лучше – в таких растворителях как алканола, трихлорметан, диэтиловый эфир, ледяная уксусная кислота, водные растворы щелочей. Гваякол плавится в интервале температур 27-29°C, кипит – по достижении 200-205°C [1, 4, 6, 13, 15].

Вещество в значительной степени токсично для теплокровных. LD₅₀ гваякола (мг/кг) при внутрижелудочном введении крысам составляет 520, мышам – 621, при ингаляционном введении мышам – 7570, при перкутанном введении кролика – 4600 [2, 3, 15].

В мировой научной литературе приводится целый ряд случаев летальных отравлений гваяколом, вызванных употреблением как самого вещества, так и содержащих его препаратов и фенольных смесей [5, 11, 12, 14, 15].

Все это характеризует данное соединение как потенциальный объект судебно-химического исследования.

Важным этапом пробоподготовки в процессе судебно-химического исследования принято считать изолирование аналита из биологических матриц.

До настоящего времени вопросы, связанные с изолированием гваякола из биологического материала, остаются недостаточно разработанными.

Для извлечения из биоматриц соединений из группы алкил- и метоксипроизводных гидроксibenзола, к которым относится и гваякол, возможно применение способов настаивания с водными и органическими жидкостями [7, 10].

Часто хорошие результаты изолирования достигаются при использовании так называемых классических методов, основанных на принципе настаивания с водными растворами кислой и щелочной реакции, а также с подкисленным этанолом.

Цель исследования – изучение особенностей изолирования гваякола из биологического материала классическими методами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Химический объект проведенного исследования – 2-метоксигидроксibenзол (гваякол) (фирма «Fluka»), содержащий ≥98% основного вещества.

Моделями биологических матриц для приготовления искусственных смесей, содержащих гваякол, явились ткани печени и почек коровы,

полученные после забоя животного на продажу и находящиеся до начала эксперимента в состоянии заморозки при 0-2°C.

Приготовленные для исследования сравнительного изолирования биологические объекты представляли собой искусственные смеси частиц печени размерами $2 \cdot 10^{-3}$ – $5 \cdot 10^{-3}$ м с аналитом, содержание которого в искусственных смесях устанавливалось на уровне 0,1%. Смеси выдерживали 45 мин при 18-22°C.

Аналит изолировали из биоматрицы четырьмя методами, считающимися классическими: Стаса-Отто (этанолом, подкисленным щавелевой кислотой), А.А. Васильевой (водой, подкисленной щавелевой кислотой, В.Ф. Крамаренко (водой, подкисленной серной кислотой) и П. Валова (водой, подщелоченной гидроксидом натрия).

1. Изолирование по Стасу-Отто.

Искусственную смесь частиц печени с гваяколом массой 25 г настаивали трижды (каждый раз в течение часа 24 часа) с порциями 95% этанола по 25 мл каждая в условиях подкисления смеси щавелевой кислотой для поддержания рН на уровне 2,5-3,0. Отдельные извлечения, получаемые декантацией, сливали в одну выпарительную чашку, упаривали на водяной бане до густоты сиропа при температуре 36-38°C и проводили очистку, осаждая балластные вещества в полученном концентрате путем добавления по каплям этанола. Осадок отфильтровывали, фильтрат сгущали до густоты сиропа и вновь проводили осаждение балластных веществ по вышеописанной схеме. Стадию очистки считали завершенной, если фиксировалось отсутствие выпадения осадка от прибавления первых капель этанола к полученному в очередной раз сиропобразному концентрату. В этом случае концентрат разбавляли 10 мл воды и экстрагировали аналит из полученного кисло-водного раствора трехкратно порциями хлороформа по 10 мл каждая. Хлороформные экстракты объединяли, обезвоживали, пропуская через три слоя фильтровальной бумаги, вносили в выпарительную чашку, упаривали до объема 4-6 мл, количественно переносили в мерную колбу на 10 мл и доводили до метки хлороформом (раствор для исследования).

2. Изолирование по А.А. Васильевой.

Искусственную смесь частиц печени с гваяколом массой 25 г настаивали дважды (последовательно в течение 2 часов и 1 часа) с порциями воды по 50 мл каждая в условиях подкисления смеси щавелевой кислотой для поддержания рН на уровне 2,0-2,5. Отдельные извлечения, получаемые декантацией, смешивали, фильтровали через три слоя марли и экстрагировали аналит из полученного кисло-водного фильтрата трех-

кратно порциями хлороформа по 10 мл каждая. Хлороформные экстракты объединяли, обезвоживали и далее поступали так же как описано выше для изолирования по Стасу-Отто, получая раствор для исследования.

3. Изолирование по В.Ф. Крамаренко.

Искусственную смесь частиц печени с гваяколом массой 25 г настаивали трижды (первый раз в течение 2 часов, два последующих раза – по 1 часу) с порциями воды по 25 мл каждая в условиях подкисления смеси серной кислотой для поддержания рН на уровне 2,5. Отдельные извлечения, получаемые декантацией, смешивали, центрифугировали, центрифугат отделяли, насыщали сульфатом аммония, выпадающий осадок отделяли центрифугированием. Центрифугат сливали с осадка, анализ экстрагировали из кислотно-водного центрифугата трехкратно порциями хлороформа по 10 мл каждая. Хлороформные экстракты объединяли, обезвоживали и далее поступали так же как описано выше для изолирования по Стасу-Отто, получая раствор для исследования.

4. Изолирование по П. Валову.

Искусственную смесь частиц печени с гваяколом массой 25 г настаивали однократно (в течение 0,5 часа) с порцией воды объемом 25 мл в условиях подщелачивания смеси гидроксидом натрия для поддержания рН на уровне 12-13 (концентрация гидроксида натрия в водном растворе примерно 1%). Водно-щелочное извлечение, получаемое декантацией, центрифугировали, центрифугат отделяли, обрабатывали 30 мл 10% раствора вольфрамата натрия в условиях подкисления 10% раствором серной кислоты до рН 2 при кипячении в течение 0,3 часа, выпадающий осадок отделяли центрифугированием. Центрифугат сливали с осадка, анализ экстрагировали из кислотно-водного центрифугата порцией диэтилового эфира объемом 10 мл, органический экстракт отделяли, анализ экстрагировали из него в виде солевой формы 10 мл 10% раствора гидроксида натрия, водно-щелочной экстракт отделяли, подкисляли 25% раствором серной кислоты до рН 2 и экстрагировали анализ в молекулярной форме 10 мл диэтилового эфира. Эфирный экстракт обезвоживали и далее поступали так же как описано выше для изолирования по Стасу-Отто, получая раствор для исследования.

После изолирования по каждому из рассмотренных классических методов в две выпарительные чашки помещали по 2,5 мл раствора для исследования, после чего растворитель из чашек испаряли.

Остаток в чашке № 1 растворяли в 5 мл этанола. Остаток из 0,3 мл полученного раствора хроматографировали в тонком слое силикагеля

(пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ, подвижная фаза – хлороформ-бензол (9:1)). Хроматограммы проявляли, облучая их светом с длиной волны 254 нм.

Аналит идентифицировали по величине абсолютной хроматографической подвижности. Исследуемое вещество извлекали из хроматограммы 5 мл этанола и идентифицировали по характеру поглощения этанольного извлечения в области кварцевого ультрафиолета.

Фиксируемая в области длинноволнового максимума оптическая плотность служила основой для расчета количественного содержания анализа с использованием уравнения градуировочного графика: $A = 0,02078 \cdot C + 0,04332$.

Остаток в чашке № 2 растворяли в 3-4 мл ацетонитрила, количественно переносили образующийся раствор в мерную колбу на 5 мл и доводили до метки этим же растворителем. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, туда же прибавляли 4 мл ацетонитрила и доводили содержимое колбы до метки ацетатным буферным раствором с рН = 5,5 (0,04М $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, CH_3COOH) (раствор Б). $2,0 \cdot 10^{-2}$ мл раствора Б подвергали хроматографированию в колонке высотой $2,5 \cdot 10^{-2}$ и диаметром $3,9 \cdot 10^{-3}$ м с сорбентом «Discovery® C18», термостатируемой при 40°C, используя прибор «LC-20 Prominace» (фирма Shimadzu, Япония) с матричным фотодиодным детектором и элюируя смесью ацетонитрил-ацетатный буферный раствор с рН = 5,5 (0,04М $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, CH_3COOH) (5:5 по объему) со скоростью 1 мл/мин. Длина волны для регистрации оптической плотности – 280 нм.

Аналит идентифицировали по времени удерживания [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рассчитанные в процессе идентификации значения абсолютной хроматографической подвижности извлеченного из биоматрицы анализа (метод ТСХ) после его изолирования по каждому из рассмотренных способов и проведения первичной очистки колебались в интервале 0,61-0,63, что совпадало со значением абсолютной хроматографической подвижности вещества-стандарта (0,61±0,02).

При оценке идентичности анализируемого соединения гваяколу методом спектрофотометрии обнаруживалось совпадение формы УФ-спектральной кривой анализа и положения на ней точек экстремумов (223-225 нм и 277-278 нм) с этими же характеристиками вещества-стандарта ($\lambda_{\text{max} 1} = 225 \pm 2$ нм; $\lambda_{\text{max} 2} = 277 \pm 2$ нм).

Таблица 1

Table 1

Оптические характеристики стандарта гваякола и гваякола, извлеченного из биологического материала классическими методами (поглощение в среде этанола) (n = 6)

Optical characteristics of standard guaiacol and guaiacol extracted from biological material by classical methods (absorption in ethanol) (n = 6)

Оптические характеристики Optical characteristics	Стандарт гваякола Guaiacol standard	Гваякол, изолированный из биоматериала Guaiacol, isolated from biomaterial			
		по методу Стаса-Отто according to the Stas-Otto's method	по методу А.А. Васильевой according to the method of A.A. Vasilyeva	по методу В.Ф. Крамаренко according to the method of V.F. Kramarenko	по методу П. Валова according to the method of P. Valov
Коротковолновая полоса поглощения Short wavelength absorption band					
$\lambda_{\max 1}$, нм $\lambda_{\max 1}$, nm	225	226	225	225	225
$E^{1\%}_{1\text{ см}}$ $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$	301	–	–	–	–
ϵ	4754	–	–	–	–
ΔE , кКал/моль ΔE , kcal/mol	124.4	123.9	124.4	124.4	124.4
Длинноволновая полоса поглощения Long wavelength absorption band					
$\lambda_{\max 2}$, нм $\lambda_{\max 2}$, nm	277	277	278	277	277
$E^{1\%}_{1\text{ см}}$ $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$	214	–	–	–	–
ϵ	3376	–	–	–	–
ΔE , кКал/моль ΔE , kcal/mol	101.1	101.1	100.7	101.1	101.1

Качественная оценка изолированного и очищенного анализа методом ВЭЖХ показала, что продолжительность нахождения его в колонке неподвижной фазы «Discovery® C18» колебалась в заданных условиях от 4,255 до 4,270. Данные результаты соответствовали времени удерживания стандарта гваякола (4,261±0,010) в этой же колонке.

Результаты оценки количественного содержания гваякола в извлечениях из модельных смесей с тканью печени после изолирования рассмотренным рядом классических методов представлены в табл. 2.

Содержание табл. 2 позволяет заключить, что степень извлечения гваякола из биоматериала рассмотренными классическими методами увеличивается в ряду: метод Стаса-Отто < метод В.Ф. Крамаренко < П. Валова < А.А. Васильевой.

Таким образом, наибольшую степень извлечения анализа из биоматрицы (37,01±4,85%) удавалось достичь, применяя классический метод А.А. Васильевой. Рассчитанные для данного метода значения предела обнаружения и предела количественного определения с использовани-

ем УФ-спектрофотометрии составили соответственно 5 и 10 мг в 100 г биологического объекта (ткань печени). Основываясь на подобных результатах, метод А.А. Васильевой был выбран нами в дальнейшем в качестве основы для разработки методики определения гваякола в биологическом материале.

Нами была проведена модификация метода А.А. Васильевой, заключающаяся в усовершенствовании этапа очистки извлекаемого из биоматрицы гваякола. При этом по сравнению с классическим вариантом модифицированный вариант после экстракции хлороформом анализа из объединенного кисло-водного извлечения предусматривал перевод гваякола в виде солевой формы из хлороформного экстракта в водно-щелочной раствор (рН 12,5-13), последующее подкисление водно-щелочного извлечения хлороводородной кислотой до рН 2-3 и экстракцию образовавшейся при этом молекулярной формы гваякола в слой этилацетата.

Модифицированный вариант был применен для определения различных количеств гваякола в тканях внутренних органов (печени и почек).

Результаты оценки количественного содержания гваякола
в извлечениях из модельных смесей с тканью печени

The results of evaluating the quantitative content of guaiacol in extracts from model mixtures with liver tissue

№	Классический метод изолирования Classical method of isolating according to	Введено гваякола, мг на 25 г биологического объекта Introduction of guaiacol, mg per 25 g of biological object	Найдено Found		Метрологические характеристики Metrological specifications
			мг mg	%	
1	2	3	4	5	6
1	Стаса-Отто Stas-Otto	0.02542	0.007189	28.28	$\bar{x} = 22.78$ $S = 5.51$ $S_{\bar{x}} = 2.30$ $\Delta\bar{x} = 6.38$ $\epsilon = 28.01$
		0.02375	0.005636	23.73	
		0.02468	0.004786	19.39	
		0.02715	0.007236	26.65	
		0.02649	0.004204	15.87	
2	А.А. Васильевой A.A. Vasilyeva	0.02481	0.008537	34.41	$\bar{x} = 37.01$ $S = 3.90$ $S_{\bar{x}} = 1.74$ $\Delta\bar{x} = 4.85$ $\epsilon = 13.10$
		0.02684	0.008722	36.22	
		0.02455	0.007996	32.57	
		0.02736	0.011535	42.16	
		0.02530	0.010042	39.69	
3	В.Ф. Крамаренко V.F. Kramarenko	0.02268	0.008476	27.37	$\bar{x} = 26.43$ $S = 4.56$ $S_{\bar{x}} = 2.04$ $\Delta\bar{x} = 5.67$ $\epsilon = 21.46$
		0.03643	0.007585	20.82	
		0.02512	0.007132	28.39	
		0.02429	0.005621	23.14	
		0.02395	0.007772	32.45	
4	П. Валова P. Valov	0.02431	0.007906	32.52	$\bar{x} = 29.85$ $S = 4.23$ $S_{\bar{x}} = 1.89$ $\Delta\bar{x} = 5.26$ $\epsilon = 17.62$
		0.02716	0.009501	34.98	
		0.02523	0.006853	27.16	
		0.02362	0.005742	24.31	
		0.02568	0.007779	30.29	

В целом, модифицированный вариант метода имел следующий вид.

Искусственную смесь биоматериала (мелкоизмельченной ткани печени или почек) с тем или иным количеством гваякола массой 25 г настаивали дважды (последовательно в течение 2 часов и 1 часа) с порциями воды по 50 мл каждая в условиях подкисления смеси щавелевой кислотой для поддержания pH на уровне 2,0-2,5. Извлечения, получаемые декантацией, смешивали, фильтровали через три слоя марли и экстрагировали аналит из полученного кислородного фильтрата трехкратно порциями хлороформа по 10 мл каждая (продолжительность отдельного этапа экстрагирования – 4 мин). Хлороформные экстракты объединяли, обезвоживали, пропуская через три слоя фильтровальной бумаги, вносили в выпарительную чашку, упаривали до объема 4-6 мл, количественно переносили в мерную колбу на 10 мл и доводили до метки хлороформом. Хлороформный раствор встряхивали дважды с порциями 5% раствора гидроксида натрия по 10 мл каждая при про-

должительности отдельного этапа экстрагирования 4 минуты.

Водно-щелочные экстракты объединяли в делительной воронке, подкисляли содержимое воронки 24% раствором хлороводородной кислоты до pH 2-3 и проводили экстракцию получаемого кислородного раствора дважды порциями этилацетата по 20 мл. Этилацетатные экстракты объединяли, обезвоживали, пропуская через три слоя фильтровальной бумаги, вносили в выпарительную чашку, упаривали в токе воздуха комнатной температуры до объема 4-6 мл, количественно переносили в мерную колбу на 10 мл и доводили до метки этилацетатом (раствор для исследования). Далее поступали по вышеописанной схеме.

Отличия состояли в том, что после растворения остатка в чашке № 1 в 5 мл этанола хроматографированию (ТСХ) подвергали остаток из 0,6 мл полученного раствора, а после растворения остатка в чашке № 2 в 5 мл ацетонитрила в мерной колбе на 5 мл в мерную колбу вместимостью 10 мл переносили 2 мл полученного раствора.

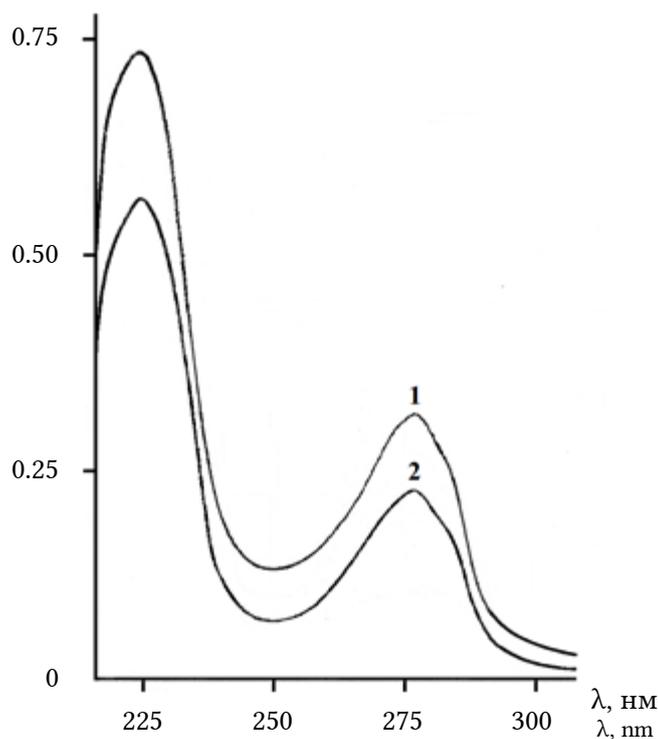
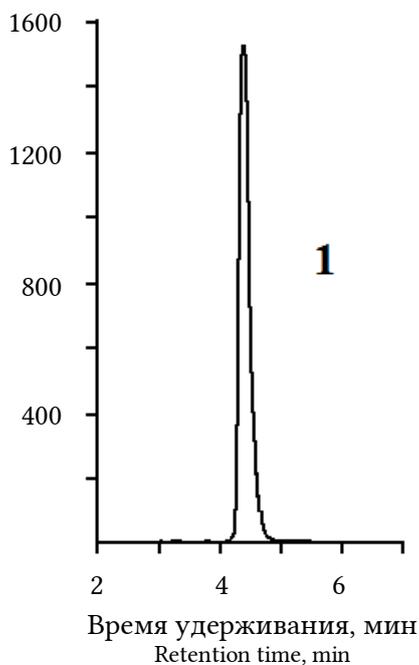


Рис. 1. УФ-спектры в 95% этаноле: 1 – стандарта 2-метоксигидроксибензола (0,0025%); 2 – 2-метоксигидроксибензола, извлеченного из ткани печени модифицированным методом А.А. Васильевой.

Fig. 1. UV spectra in 95% ethanol: 1 – 2-methoxyhydroxybenzene standard (0.0025%); 2 – 2-methoxyhydroxybenzene, extracted from the liver tissue by the modified method of A.A. Vasilyeva.

Интенсивность, усл. ед.
Intensity, conv. units



Интенсивность, усл. ед.
Intensity, conv. units

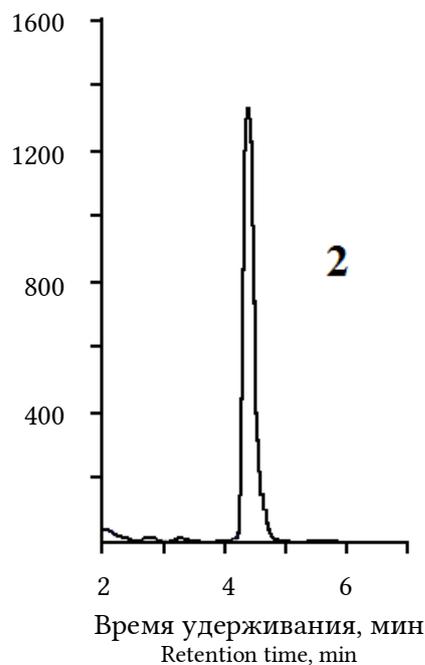


Рис. 2. Хроматограммы 2-метоксигидроксибензола, полученные методом ВЭЖХ: 1 – хроматограмма вещества-стандарта; 2 – хроматограмма вещества, извлеченного из ткани печени модифицированным методом А.А. Васильевой.

Fig. 2. Chromatogram of 2-methoxyhydroxybenzene, obtained by HPLC: 1 – chromatogram of the standard substance; 2 – chromatogram of a substance extracted from the liver tissue by the modified A.A. Vasilyeva's method.

Результаты определения гваякола модифицированной методикой в модельных смесях с тканями печени и почек (n = 5; P = 0.95)

The results of the determination of guaiacol by the modified method in model mixtures with liver and kidney tissues (n = 5; P = 0.95)

Внесено гваякола в биологический объект Incorporated guaiacol into a biological object		Найдено, % (n=5, p=0.95) Found, % (n = 5, p = 0.95)				
мг / 25 г mg / 25 g	%	\bar{x}	S	S _x	$\Delta \bar{x}$	S _r , %
Исследование печени Liver examination						
2.5	0.01	34.17	5.90	2.64	7.35	17.27
5.0	0.02	34.53	5.46	2.44	6.79	15.81
12.5	0.05	33.99	5.05	2.26	6.28	14.86
25.00	0.1	34.31	4.86	2.18	6.04	14.17
50.00	0.2	34.62	4.70	2.10	5.84	13.58
Исследование почек Kidney examination						
2.5	0.01	34.87	5.61	2.51	6.97	16.08
5.0	0.02	35.23	5.16	2.31	6.41	14.63
12.5	0.05	35.65	4.88	2.18	6.07	13.70
25.00	0.1	35.42	4.70	2.11	5.84	13.26
50.00	0.2	35.73	4.55	2.04	5.66	12.74

УФ-спектр 2-метоксигидроксибензола (гваякола), изолированного из ткани печени и очищенного в соответствии с методикой, разработанной на основе модификации метода А.А. Васильевой, в сравнении с УФ-спектром вещества-стандарта представлен на рис. 1.

Как свидетельствуют полученные результаты, обнаруживается практическое совпадение формы спектральных кривых и положения точек экстремумов (максимумов) на представленных спектрах.

Хроматограммы (ВЭЖХ) 2-метоксигидроксибензола (гваякола), выделенного из ткани печени и прошедшего процедуру очистки в соответствии с разработанной методикой на основе предложенной модификации метода А.А. Васильевой, а также стандарта данного соединения представлены на рис. 2.

Как свидетельствуют полученные результаты, значения времени удерживания гваякола, извлеченного из биоматрицы, и стандарта этого же соединения практически совпадают. Вместе с тем, при рассмотрении области значений времени удерживания от 4 до 5 мин на хроматограмме исследуемого соединения в сравнении с хроматограммой вещества-стандарта не обнаруживаются дополнительные пики и значимое смещение базовой линии.

Результаты определения гваякола модифицированной методикой в модельных смесях с тканью печени и почек при содержании анали-

та в биоматрицах от 0,01 до 0,2% представлены в табл. 3.

Как видно, в результате усложнения схемы очистки снижалась степень извлечения аналита на 3-4%. Однако при этом удавалось повысить пределы обнаружения (до 2,5 мг в 100 г тканей печени и до 2 мг в 100 г тканей почек) и определения (до 5 мг в 100 г тканей печени и до 4 мг в 100 г тканей почек) вследствие уменьшения в итоговом этилацетатном экстракте количества соэкстрагирующихся веществ биоматрицы.

Совокупность проведенных исследований определяет возможность сделать следующие выводы:

1. Изучены особенности изолирования гваякола из биологического материала (режим настаивания) рядом классических методов (Стаса-Отто, А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и П. Валова).

Степень извлечения аналита указанными методами колеблется от 22,78±6,38% (по методу Стаса-Отто) до 37,01±4,85% (по методу А.А. Васильевой).

2. Для изолирования гваякола из тканей органов предложена модификация метода А.А. Васильевой, отличающаяся от классического варианта переводением гваякола в ионизированном виде из хлороформного экстракта в водно-щелочной раствор с рН 12,5-13, подкислением последнего хлороводородной кислотой и

экстракцией молекулярной формы гваякола в слой этилацетата.

3. На основе предложенного модифицированного варианта разработана методика определения гваякола в тканях трупных органов (печень и почки).

При содержании 0,01-0,2% гваякола в биоматрице методика позволяет определить до 34,62% аналита в модельных смесях с тканями печени (открываемый минимум 2,5 мг в 100 г биоматрицы) и до 35,73% в модельных смесях с тканями почек (открываемый минимум 2 мг в 100 г биоматрицы).

Разработанная методика может быть применена в практике судебно-химического анализа при экспертизе случаев летального отравления 2-метоксигидроксибензолом (гваяколом).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования был одобрен региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета от 20.04.2018 г., протокол № 4.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Асташкина А.П., Шорманов В.К., Останин М.А., Гришечко О.И., Елизарова М.К. Особенности распределения 2- и 3- метоксипроизводных гидроксибензола в организме теплокровных животных. *Фармация*. 2013; 5:5-8 [Astashkina A.P., Shormanov V.K., Ostanin M.A., Grishechko O.I., Elizarova M.K. Distribution of hydroxybenzene methoxy derivatives in warmblooded animals. *Farmatsiya*. 2013; 5:5-8. (in Russ.)]
2. Грушко Я.М. *Вредные органические соединения в промышленных сточных водах*. Ленинград: Химия, 1982. 216 с. [Grushko Ya.M. *Harmful organic compounds in industrial wastewater*. Leningrad: Khimiya, 1982. 216 p. (in Russ.)]
3. Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. *Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии*. Москва: Медицина, 1977. 240 с. [Izmerov N.F., Sanotskiy I.V., Sidorov K.K. *Parameters of toxicometry of industrial poisons at single exposure*. Moscow: Meditsina, 1977. 240 p. (in Russ.)]
4. *Краткая химическая энциклопедия*. Под ред. Кнунянца И.Л. Том 5. Москва: Советская энциклопедия, 1967. 812 с. [A brief chemical encyclopedia. I.L. Knunyants, editor. Moscow: Sovetskaya entsiklopediya, 1967. 812 p. (in Russ.)]
5. Могош Г. *Острые отравления: диагноз, лечение*. Бухарест: Медицинское издательство, 1984. 580 с. [Mogosh G. *Acute poisoning: diagnosis, treatment*. Bucharest: Meditsinskoye izdatel'stvo, 1984. 580 p. (in Russ.)]
6. Пассет Б.В., Воробьева В.Я. *Технология химико-фармацевтических препаратов и антибиотиков*. Москва: Медицина, 1977. 430 с. [Passet B.V., Vorob'yeva V.Ya. *Technology of chemical and pharmaceutical preparations and antibiotics*. Moscow: Meditsina, 1977. 430 p. (in Russ.)]
7. Пугачёва О.И., Асташкина А.П., Шорманов В.К., Останин М.А. Особенности распределения 2,4- и 2,6-диметильных производных гидроксибензола в организме теплокровных животных. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2014; 57(4):44-48 [Pugacheva O.I., Astashkina A.P., Shormanov V.K., Ostanin M.A. Specific features of the distribution of 2,4- and 2,6-dimethyl derivatives of hydroxybenzene in the body of the warm-blooded animals. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2014; 57(4):44-48 (in Russ.)]
8. Шалыминова Д.П., Черезова Е.Н., Пономарев А.В., Тананаев И.Г. Фенольные продукты радиационно-термического разложения лигнина как ингибиторы термополимеризации стирола. *Химия высоких энергий*. 2008; 42(5):388-392. [Shalyminova D.P., Cherezova E.N., Ponomarev A.V., Tananaev I.G. Phenolic products of radiation-thermal degradation of lignin as inhibitors for thermal polymerization of styrene. *High Energy Chemistry*. 2008; 42(5):342-345] DOI: 10.1134/S0018143908050020
9. Шорманов В.К., Иванов В.П., Королев В.А., Маслов С.В., Жуков Д.А., Олимпиев И.Б., Олейник С.М. Судебно-химическое определение фурадана. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2005; 48(3):27-31 [Shormanov V.K., Ivanov V.P., Korolev V.A., Maslov S.V., Zhukov D.A., Olimpiyev I.B., Oleynik S.M. Forensic chemical definition of furadan. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2005; 48(3):27-31 (in Russ.)]
10. Шорманов В.К., Пугачёва О.И., Асташкина А.П., Цаца Е.П. Особенности распределения 2,6-дигидрокси-4-метилгидроксибензола в организме теплокровных животных. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2016; 59(1): 29-34 [Shormanov V.K., Pugacheva O.I., Astashkina A.P., Tsatsua E.P. Features of the distribution of 2,6-di-tert-butyl-4-metilgidroksibenzoat in the body of warm-blooded animals. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2016; 59(1): 29-34 (in Russ.)]
11. Amstutz H.E. Suspected pentachlorophenol and creosote poisoning. *Mod Vet Pract*. 1980; 61(1):53-54.
12. Bowman C.E., Muhleman M.F., Walters E. A fatal case of creosote poisoning. *Postgrad Med J*. 1984; 60(705):499-500. DOI: 10.1136/pgmj.60.705.499
13. Butzke C.E., Evans T.J., Ebeler S.E. Detection of Cork Taint in Wine Using Automated Solid-Phase Micro-Extraction in Combination with GC/MS-SIM. *ACS Symposium Series*. 1998; 714:208-216. DOI: 10.1021/bk-1998-0714.ch015.
14. Dixon Mann J. *Forensic Medicine and Toxicology*. CHIZINE PUBN, 2018. 688 p.

15. *Guaiacol* MSDS. *Material Safety Data Sheet*. URL: www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9924208.

16. *Guaiacol*. *PubChem*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/guaiacol#section=Top>.

Поступила в редакцию 03.05.2019

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Останин М.А., Чернова А.П., Шорманов В.К., Елизарова М.К. Применение классических методов для изолирования 2-метоксигидроксибензола (гваякола) из биологического материала. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):102-110. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/12.

APPLICATION OF CLASSICAL METHODS FOR ISOLATING 2-METHOXYHYDROXYBENZENE (GUAIACOL) FROM BIOLOGICAL MATERIALS

© Ostanin M.A.¹, Chernova A.P.², Shormanov V.K.¹, Elizarova M.K.³

¹ **Kursk State Medical University (KSMU)**

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

² **Institute of Natural Resources of Tomsk Polytechnic University (INR TPU)**

30, Lenin Avenue, Tomsk, Tomsk region, 634050, Russian Federation

³ **Yeysk Medical College (YMC)**

74/2, Krasnaya St., Yeysk, Krasnodar Krai, 353680, Russian Federation

Objective: the study of the features of isolating guaiacol from a biological material by classical methods.

Materials and methods. The object of the study is 2-methoxyhydroxybenzene (guaiacol) ("Fluka" company), containing ≥98% of the main substance. Models of biological matrices for the preparation of artificial mixtures with guaiacol are liver tissue and kidney. Liquid-liquid extraction is considered as the main purification method. TLC, UV spectrophotometry and HPLC are used for identification. Evaluation of the quantitative content of 2-methoxyhydroxybenzene in the extracts was carried out by the method of UV-spectrophotometry.

Results. This study was conducted on the comparative isolation of 2-methoxyhydroxybenzene (guaiacol) from biological materials by a number of classical methods: Stas-Otto's, A.A. Vasilyeva's, V.F. Kramarenko's and P. Valov's methods. The TLC, UV spectrophotometry and HPLC were used to identify the isolated analyte. Quantitative assessment of the isolated compound was performed by the method of spectrophotometry in the UV region (analytical wavelength 277 nm). A modified version of the A.A. Vasilyeva's method was devised. It provided an additional stage of extraction purification of the isolated analyte consisting of the following: transformation of guaiacol as an ionized form from the chloroform extract into a water-alkaline solution (pH 12.5–13), acidification of the water-alkaline extraction with hydrochloric acid to pH 2–3 and extraction of the resulting molecular form of guaiacol into a layer of ethyl acetate.

Conclusion. Based on the modified A.A. Vasilyeva's method, a protocol for determining guaiacol in the tissues of cadaveric organs was developed. When the content of guaiacol in the biomaterial is 0.01–0.2%, this protocol allows to analyze $(33.99-34.62) \pm (5.84-7.35) \%$ of the analyte in liver tissues and $(34.87-35.73) \pm (5.66-6.97) \%$ in kidney tissues.

Keywords: 2-methoxyhydroxybenzene (guaiacol), classical isolation methods, modification of the A.A. Vasilyeva's method, detection in biomaterial, chemical-toxicological analysis.

Ostanin Maxim A. – Correspondence Postgraduate Student of Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1984-5663. E-mail: m.a.ostanin@mail.ru

Chernova Anna P. – PhD in Chemistry, Associate Professor of Department of Physical and Analytical Chemistry, INR TPU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7002-492X. E-mail: apa2004@mail.ru

Shormanov Vladimir K. – Doctor in Pharmacy, Professor of Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8872-0691. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru (correspondence author)

Elizarova Madina K. – PhD in Pharmacy, Lecturer, YMC, Yeysk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-8944-4358. E-mail: gouk-kemk@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study protocol was approved by the Regional Ethical Committee under Kursk State Medical University (Protocol No. 4 of 20.04.2018).

Received 03.05.2019

Accepted 20.06.2019

For citation: Ostanin M.A., Chernova A.P., Shormanov V.K., Elizarova M.K. Application of classical methods for isolating 2-methoxyhydroxybenzene (guaiacol) from biological materials. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019; (2):102-110. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/12.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА "КУРСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК "ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ"

Настоящие правила основаны на «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (www.icmje.org).

Все публикации в журнале являются бесплатными.

1. В журнале «Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» печатаются ранее не опубликованные работы в области экспериментальной биологии и медицины, клинической медицины, общественного здоровья и фармации. Публикации могут быть представлены в виде оригинальных исследований, научно-методологических статей, обзоров литературы, дискуссионных статей, лекций, кратких сообщений, отчетов о конгрессах, съездах, симпозиумах и конференциях. Направляемые оригинальные работы должны давать полное представление о методах исследования, собранном материале и его статистической обработке (включая указание конкретных статистических критериев).

Не принимаются к печати статьи:

- выполненные с нарушением Правил и норм гуманного обращения с объектами исследования;
- напечатанные ранее в других изданиях или отправленные для публикации.

Ставя подпись под статьей, автор тем самым:

- передает права на издание и переводы своей работы редакции (включая возможность направления в научно-информационные базы и пр.);

- гарантирует оригинальность статьи и соблюдение международных и российских правовых норм при экспериментальных, доклинических и клинических исследованиях;

- несет полную ответственность за целостность данных и точность их анализа;

- дает согласие для передачи статьи третьим лицам на внешнее рецензирование и возможность публикации любой информации, полученной редакцией (в частности, адресов электронной почты);

- дает согласие на обработку представленных персональных данных;

- полностью принимает настоящие правила.

Организация, направляющая статью, наряду с авторами несет за нее ответственность.

Авторы, если это необходимо, должны обозначить возможные конфликты интересов, связанные с данной работой, а также потенциальные причины для их возникновения. Кроме того, в ряде случаев возможно указание лиц, кому, по мнению авторов, не стоит предлагать рецензировать рукопись с объяснением причин.

Также следует указывать все представления рукописи и предшествующие работы (если таковые были), которые могут быть расценены как дублирующая публикация той же или очень похожей работы.

2. В редакцию предоставляются:

- официальное направление от учреждения, в котором выполнена работа (с подписью и печатью руководителя) – 1 экземпляр (кроме работ, выполненных только в КГМУ);

- при необходимости – экспертное заключение (с подписью и печатью) – 1 экземпляр;

- статья (+ таблицы, рисунки, диаграммы и пр.) – 2 экземпляра, с подписями всех авторов на одном из них и визой руководителя учреждения;

- рефераты на русском и английском языках – 2 экземпляра;

- сведения об авторах (фамилия, имя, отчество полностью, ученая степень и должность, контактные номера телефонов (мобильные и рабочие), адреса электронной почты, место работы, домашний адрес). Отдельно указывается автор, ответственный за переписку и автор (поручитель), ответственный за целостность работы как таковой (по умолчанию, это одно лицо, если не указано иное);

- согласие на обработку персональных данных по форме, представленной на сайте журнала;

- диск (CD-R, CD-RW, DVD-R, DVD-RW) или USB-флеш-накопитель, содержащие в отдельных файлах электронные версии: статьи, таблиц, рисунков, диаграмм, рефератов, сведений об авторах в формате *.doc или *.rtf.

Электронный и печатный варианты должны быть полностью идентичны по содержанию и оформлению. Для удобства рецензирования и редактирования страницы рукописи нумеруется, начиная с первой.

3. Материалы представляются в формате *.doc или *.rtf с использованием шрифта Times News Roman. Страница формата А4, расположение листа – книжное, размер шрифта – 14, межстрочный интервал – полуторный (не более 30 строк на странице), поля – 2 см, отступ в абзаце – 1,25 см, без переносов.

Не допускается использовать:

- разбивку на страницы;
- пронумерованные списки;
- альбомное расположение страниц;
- макросы и стили;
- надписи в колонтитулах;
- более одного пробела подряд (вместо них необходимо использовать автоматическое выравнивание, табуляцию, абзацные отступы);

4. Рефераты как на русском, так и на английском языках обязательно должны иметь следующую структуру (от начала к окончанию):

- УДК (указывается только в реферате на русском);

- название статьи (НЕ ДОПУСКАЕТСЯ использование только ЗАГЛАВНЫХ букв);

- фамилия, а затем инициалы автора (ов);

- полное название учреждений и структурных подразделений, в которых выполнена работа, город, страна.

Не следует указывать универсальные префиксы, говорящие о форме собственности, организационно-правовых и иных неспецифичных особенностях данного заведения (например, ГБОУ, ВПО, ФГБУ и т.д.).

Вначале в именительном падеже указывается название подразделения, а затем в родительном падеже – учреждения (например, Кафедра патофизиологии Курского государственного медицинского университета, Курск).

При наличии нескольких – в верхнем регистре арабскими цифрами указывается принадлежность авторов соответствующим организационным/подразделениям:

- контактный e-mail автора, осуществляющего переписку (указывается только в реферате на русском);

- аннотация;

- ключевые слова или словосочетания через запятую (до 7).

Аннотации должны быть объемом от 600 до 1000 символов, в общих чертах соответствовать структуре статьи и представлять собой 1 абзац логически цельного текста (без выделения подзаголовков). Необходимо учитывать, что достаточно часто аннотация является единственным источником информации о статье в российских и международных научно-информационных базах и служит основой для цитирования работы. Важно использовать официально принятые английские варианты наименований учреждений, правильно транслитерировать фамилии и инициалы авторов.

5. Статьи должны иметь следующую структуру:

- название (ЗАГЛАВНЫМИ буквами с выравниванием по центру) – должно точно отражать содержание статьи;

- фамилия, инициалы автора (ов);

- название учреждения и структурного подразделения, в котором выполнена работа; после чего размещается пустая строка

- далее идет собственно текст работы. Статья должна содержать следующие разделы: введение с четкой формулировкой цели исследования, материалы и методы исследования, полученные результаты и их обсуждение с заключением или выводами, список литературы.

В статье желательно наличие только 3 заголовков: «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ», «РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ», «ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES». Не стоит дополнительно вводить другие заголовки и подзаголовки (напр., «Введение», «Актуальность» и др.).

В разделе «Материалы и методы исследования» должна содержаться информация в таком объеме и с такой детализацией, чтобы обеспечить возможность повторяемости полученных результатов для любых сторонних исследователей.

По желанию авторов в текст статьи может быть включен раздел «БЛАГОДАРНОСТИ», для чего необходимо заручиться письменным согласием (в редакцию не предоставляется) перечисляемых лиц.

Объем статей с результатами оригинальных исследований не должен превышать (включая таблицы,

список литературы, подписи к рисункам и резюме) 15 страниц;

- обзоров, лекций и проблемных статей – до 20 страниц;

Рукописи большего размера, предоставленные без согласования с редакцией, не рассматриваются.

6. Микрофотографии и рисунки предоставляются черно-белыми в форматах jpg или tiff с разрешением не менее 300 dpi. На обороте только второго экземпляра рисунков карандашом указываются номер рисунка, фамилия автора и название статьи, словом обозначается верх рисунка. После каждого изображения должна быть общая подпись и объяснения всех кривых, букв, цифр и прочих сокращений. В подписях к микрофотографиям необходимо указывать увеличение и метод окраски или импрегнации. Иллюстрации в черно-белом варианте должны быть ясными и разборчивыми, а обозначения на них – контрастными и четко идентифицируемыми.

Число рисунков к статьям не должно превышать 5. Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. По просьбе редакции к каждому графику прилагаются цифры для его построения.

Не допускается использовать:

- автофигуры для формирования элементов изображения;

- цветные варианты изображений.

7. Таблицы (не более 5) должны содержать обобщенные и статистически обработанные материалы исследования, иметь номер и заголовок. В таблицах все графы должны иметь заголовки, цифры и единицы измерения соответствовать тексту, сокращения слов не допускаются. Повторять одни и те же данные в тексте, на рисунках и в таблицах не следует.

8. В статье сокращение слов допускается только с первоначальным указанием полного названия или в соответствии с перечнем, принятым Комитетом стандартов. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц СИ. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. Химические и математические формулы должны быть тщательно выверены. Греческие буквы подчеркиваются красным цветом, латинские – синим.

9. Список литературы приводится в виде полного библиографического описания работ в алфавитном порядке (сначала русского, а затем латинского алфавита).

При оформлении ссылок курсивом указываются ВСЕ АВТОРЫ используемой работы! Обязательным является указание DOI при его наличии у статьи.

Примеры оформления списка литературы

Для журнальных статей:

Калюжин О.В., Гитлин И.Г., Калина Н.Г., Мулик Е.Л., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Тахватулин А.И. Влияние композиции клеточных стенок *Bifidobacterium bifidum* и *Saccharomyces cerevisiae* на выживаемость мышей в условиях экспериментального сепсиса // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2012. – № 3. – С. 10-14.

Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалев В.Н., Космачевская О.В., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Свинов М.М., Косицын Н.С. Возможная роль диоксида азота, обра-

зующегося в местах бифуркации сосудов, в процессах их повреждения при геморрагических инсультах и образовании атеросклеротических бляшек // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 4. – С. 73-93.

Для книг:

Березов Т.Т., Коровин Б.Ф. Биологическая химия : учебник. – 3-е изд., стереотип. – М. : Медицина, 2012. – 704 с.

Акуленко Л.В., Угаров И.В. Медицинская генетика / под ред. О.О. Янушевич, С.Д. Арутюнова – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 208 с.

Патофизиология: учебник: в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 1. – 848 с.: ил.

Главы в книге:

Еникеев Д.А. Патофизиология экстремальных состояний // Патологическая физиология / под ред. А.И. Воложина, Г.В. Порядина – М. : МЕДпресс, 1998. – Т. 1. – С. 447-473.

Электронные источники:

Катетеризация сердца через артерию предплечья [Электронный ресурс] // Российское агентство медико-социальной информации АМИ. – Режим доступа: <http://ria-ami.ru/news/86706>, свободный (07.04.2013).

Швейцарцы предложили диагностировать болезни по дыханию [Электронный ресурс] // Медпортал.ру. – Режим доступа: <http://medportal.ru/mednovosti/news/2013/04/05/breathprints/>, свободный (02.04.2013).

Патенты:

Способ изготовления гибких трубок : заявка 54-161681 Япония, МКИ В 29 D 23/18 / Йосяки Инаба. – № 53-69874 ; заявлено 12.06.78 ; опубл. 21.12.79, Бюл. № 34. – 4 с.

Multi-layer polyolefin shrink film : пат. 4194039 США, МКИ В 32 В 7/2, В 32 В 27/08 / W.B. Muelier. – № 896963 ; заявлено 17.04.78 ; опубл. 18.03.80, Бюл. № 9. – 3 с.

Число ссылок не должно превышать 30, для обзорных статей – 100. В тексте в квадратных скобках дается ссылка на порядковый номер работы в списке литературы. НЕ ДОПУСКАЮТСЯ ссылки на материалы конференций, диссертации, авторефераты диссертаций, неопубликованные работы.

Ответственность за правильность и точность библиографических данных возлагается на автора.

10. Присланные материалы обязательно проходят процедуру внешнего рецензирования, являющегося

конфиденциальным. При несогласии с мнением рецензента, авторы вправе изложить мотивированный ответ на рецензию.

Все поступающие рукописи в обязательном порядке проходят экспертизу на соблюдение этических норм при выполнении научных исследований и корректность заимствований.

Если в процессе подготовки к печати у редакторов возникают вопросы, в статье обнаруживаются смысловые или технические дефекты, она может быть возвращена автору для исправления. Редакция также оставляет за собой право корректировать и сокращать принятые материалы, если это необходимо. Кроме того, если это потребуется, автор обязуется предоставить первичные данные. В случае возврата статьи на переработку ее предварительное рецензирование не означает, что статья принята к печати. После получения нового текста вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все замечания рецензента работа вновь рассматривается редколлегией. После внесения исправлений автор направляет в редакцию полный вариант статьи, включая рисунки, таблицы, диаграммы и пр., а не только части, в которых были внесены изменения. Датой поступления статьи считается день получения редакцией окончательного текста.

Возможность любых несоответствий с правилами для авторов должна согласовываться с редакцией.

При отсутствии реакции на замечания редакции со стороны авторов более 6 месяцев статья автоматически считается снятой с рассмотрения. Статьи, не соответствующие обозначенным выше правилам, могут быть отклонены редакцией без разъяснения причин.

Редакция обеспечивает сохранность представленных персональных данных.

Примерный срок от момента подачи статьи до ее опубликования может составлять до 8 месяцев. Периодичность издания журнала – 4 раза в год.

Адрес редакции: 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, редакция журнала "Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье".

Тел. (4712) 58-81-48. Факс (4712) 58-81-37.

E-mail: kursk-vestnik@mail.ru

Контактная информация: кафедра патофизиологии, к. 336, профессор Игорь Иванович Бобынцев, доцент Андрей Евгеньевич Белых.

Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.
Формат 60x84¹/₈. Усл. печ. л. 14,5.
Тираж 1000 экз.

Подписано в печать 20.06.2019.
Отпечатано в типографии КГМУ.
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Заказ № 243(Г).