

ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ

рецензируемый научно-практический журнал

Основан в 1998 году

Том 27, № 4

2024

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

История переименований: предыдущее название – «Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» (с 1998 по 2020 год) (свидетельство о регистрации: ПИ № 77-3066 от 10.04.2000 г. – печатное издание), с 2021 г. издание носит название «Человек и его здоровье».

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 «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 Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) (реестровая запись о регистрации: ПИ № ФС77-80667 от 07.04.2021 г. – печатное СМИ журнал).

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. 9,5.
Тираж 1000 экз.
Подписано в печать 25.12.2024.
Отпечатано в типографии КГМУ.
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.
Заказ № 28(Г).
Дата выхода в свет 30.12.2024.

Индексация: Russian Science Citation Index (RSCI) на платформе Web of Science, ПИНЦ (Science Index), Ulrich's International Periodicals Directory, Cyberleninka, Google Scholar, CrossRef, ВИНТИ РАН, Соционет, OCLC WorldCat, Dimensions, ROAD, Lens.Org, Research4Life, OpenAIRE, Российская книжная палата, Российская государственная библиотека.

© Редколлегия журнала «Человек и его здоровье» (составитель), 2024 г.

HUMANS AND THEIR HEALTH

peer-reviewed scientific and practical journal

Established in 1998

Vol. 27, No 4

2024

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)
V.P. Gavrilyuk, <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)	A.V. Lepilin,	PhD, MD, Full Professor (Saratov)
I.V. Gayvoronsky,	Professor (St. Petersburg)	N.N. Maslova,	PhD, MD, Full Professor (Smolensk)
A.P. Gesase,	Professor (Tanzania)	V.P. Mikhin,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
M.M. Gurova,	PhD, MD, Associate Professor (Belgorod)	A.Yu. Mironov,	Professor (Moscow)
V.K. Gostishchev,	Academician of Russian Academy of Sciences (Moscow)	M.Z. Narimanyan,	Professor (Armenia)
V. Grinevich,	Professor (Germany)	S.V. Povetkin,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
K.G. Gurevich,	Professor of Russian Academy of Sciences (Moscow)	A.V. Polonikov,	PhD, MD, Full Professor (Kursk)
R.C. Gutierrez,	Professor (Brazil)	G.V. Poryadin,	Corresponding Member of Russian Academy of Sciences (Moscow)
I.I. Dolgushin,	Academician of Russian Academy of Sciences (Chelyabinsk)	A. P. Rachin,	PhD, MD, Full Professor (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)
A.K. Iordanishvili,	PhD, MD, Full Professor (St. Petersburg)	O.L. Chugunova,	PhD, MD, Full Professor (Moscow)
T.A. Ishunina,	PhD, MD, Associate Professor (Kursk)	V.K. Shormanov,	PhD, Doctor of Pharmacy, Full Professor (Kursk)

Renaming history: the previous name – Kursk Scientific and Practical Bulletin “Man and His Health” (from 1998 to 2020) (certificate of registration: PI No. 77-3066 of 10.04.2000), since 2021 the journal is named “Humans and their Health”.

Founder and publisher: Kursk State Medical University, the Ministry of Health of the 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 “Humans and their 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.



Registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) (registration record: PI № FS77-80667 of 07.04.2021).

Publication Frequency: 4 times a year

Publisher:

Kursk State Medical University,
3, K. Marx, Kursk, 305041, Russia
License: LR No. 020862 dated to 30.04.99.
Signed to print 25.12.2024.
Format 60x841/8. C.p.l. 9,5.
1000 copies.
Printed in the Printing House of Kursk State Medical University
3, K. Marx, Kursk, 305041, Russia
Order No. 28(G).
Date of publication 30.12.2024.

The journal is indexed: Russian Science Citation Index (RSCI) on the Web of Science platform, 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, Socionet, OCLC WorldCat, Dimensions, ROAD, Research4Life, Lens.Org, OpenAIRE, Russian Book Chamber, Russian State Library.

© Editorial board of the journal “Humans and their Health” (compiler), 2024

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Косман В.М., Карлина М.В., Мазукина Е.В., Морозов С.В., Гущина Е.Е., Журавская Н.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.**
Доклиническое изучение безопасности и токсикокинетики препарата фенозановой кислоты 4
- Кривошлыкова М.С., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Ворвуть А.О., Медведева О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф.**
Эффекты пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние стенки ободочной кишки при длительном иммобилизационном стрессе 23
- Майлян Э.А., Геворкян Р.Р., Резниченко Н.А., Ткаченко К.Е.**
Уровни витамина D и миостатина у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи 32
- Судейманова С.В., Абакаров М.Г.**
Нестероидные противовоспалительные препараты и сердечно-сосудистый риск: обзор 40
- Коновалова А.А., Цепелев В.Л.**
Цистатин С как показатель острого повреждения почек у пациентов с термическими ожогами кожи 51

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Попов И.В., Папаяни О.И., Юртаева Е.А., Попова О.И.**
Биологически активные соединения листьев и плодов сумаха пушистого (*Rhus typhina* L.) и их роль в проявлении антимикробной активности 58
- Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Рогова О.В.**
Особенности определения тетраэтилтиурамдисульфида (антабуса) методом производной спектрофотометрии 66

MEDICO-BIOLOGICAL SCIENCES

- Kosman V.M., Karlina M.V., Mazukina E.V., Morozov S.V., Gushchina E.E., Zhuravskaya N.V., Makarova M.N., Makarov V.G.**
Preclinical evaluation of phenosan acid safety and toxicokinetics 4
- Krivoshlykova M.S., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Vorvut A.O., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasiedov N.F.**
Effects of Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of the colonic wall under prolonged restraint stress 23
- Maylyan E.A., Gevorkyan R.R., Reznichenko N.A., Tkachenko K.E.**
Vitamin D and myostatin levels in postmenopausal women with stress urinary incontinence 32
- Suleimanova S.V., Abakarov M.G.**
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk: a review 40
- Konovallava A.A., Tsepelev V.L.**
Cystatin C as an indicator of acute kidney injury in patients with thermal skin burns 51

PHARMACEUTICAL SCIENCES

- Popov I.V., Papayani O.I., Yurtaeva E.A., Popova O.I.**
Biologically active compounds of leaves and fruits of staghorn sumac (*Rhus typhina* L.) and their role in the manifestation of antimicrobial activity 58
- Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Rogova O.V.**
Peculiarities of determination of tetraethylthiuramdisulfide (antabuse) by derivative spectrophotometry... 66

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ТОКСИКОКИНЕТИКИ ПРЕПАРАТА ФЕНОЗАНОВОЙ КИСЛОТЫ

© Косман В.М.¹, Карлина М.В.¹, Мазукина Е.В.¹, Морозов С.В.², Гущина Е.Е.², Журавская Н.В.², Макарова М.Н.¹, Макаров В.Г.¹

¹ Акционерное общество «Научно-производственное объединение “ДОМ ФАРМАЦИИ”»

Россия, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245

² ООО «ПИК-ФАРМА»

Россия, 125047, г. Москва, пер. Оружейный, д. 25, стр. 1, пом. 1, эт. 1

Углубленные пострегистрационные исследования фенозановой кислоты, действующего вещества оригинального отечественного лекарственного препарата «Дибуфелон®», разрешенного для медицинского применения у человека, как противоэпилептическое средство, направлены на совершенствование его клинического применения.

Цель – анализ токсических свойств, иммунотоксичности, токсикокинетики и элементов развития лекарственной зависимости, оценка возможных канцерогенных свойств препарата фенозановой кислоты на половозрелых собаках породы бигль при многократном пероральном введении с периодом отсроченного наблюдения.

Материалы и методы. Препарат фенозановой кислоты вводили собакам перорально (контрольная группа животных, 2 самца и 2 самки и 3 экспериментальные группы животных по 5 самцов и 5 самок) в течение 270 сут. в дозах 24, 60 и 120 мг/кг (1; 2,5 и 5 высших терапевтических доз (ВТД) соответственно). Проводили оценку общетоксических свойств, местнораздражающего действия, влияния на иммунокомпетентные органы, элементов развития лекарственной зависимости, возможных канцерогенных свойств, а также основных фармакокинетических параметров (C_{max}, T_{max}, AUC₀₋₂₄, MRT, T_{1/2}).

Результаты. Препарат фенозановой кислоты не оказывал местнораздражающего, иммунотоксического и канцерогенного действия, не вызывал синдром отмены. При введении препарата преимущественно в средней и максимальной дозах выявлены неврологические и поведенческие отклонения (тремор, единичные случаи незначительного угнетения поведения и отказ от корма). Доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), не установлена (менее 24 мг/кг). Анализ токсикокинетических данных показал отсутствие кумуляции действующего вещества после многократного перорального введения препарата.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что при применении препарата фенозановой кислоты стоит учитывать возможные побочные эффекты (неврологического и поведенческого характера), которые связаны с непосредственным фармакологическим профилем препарата.

Ключевые слова: фенозановая кислота; безопасность; токсикокинетика; доклинические исследования.

Косман Вера Михайловна – канд. фарм. наук, рук-ль химико-аналитической лаборатории, АО «НПО “ДОМ ФАРМАЦИИ”», г.п. Кузьмолловский, Ленинградская обл. ORCID iD: 0000-0001-9690-1935. E-mail: kosman.vm@doclinika.ru (автор, ответственный за переписку).

Карлина Марина Валерьевна – канд. биол. наук, рук-ль отдела технологии, кинетики и анализа лекарственных средств, АО «НПО “ДОМ ФАРМАЦИИ”», г.п. Кузьмолловский, Ленинградская обл. ORCID iD: 0000-0002-6292-8934. E-mail: karlina.mv@doclinika.ru

Мазукина Елизавета Владимировна – зам. рук-ля отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии, АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмолловский, Ленинградская обл. ORCID iD: 0000-0002-1448-921X. E-mail: mazukina.ev@doclinika.ru

Морозов Сергей Викторович – канд. мед. наук, директор по развитию, ООО «ПИК-ФАРМА», г. Москва. ORCID iD: 0000-0002-8514-792X. E-mail: morozov_s@pikfarma.ru

Гущина Евгения Евгеньевна – специалист по медицинской информации, ООО «ПИК-ФАРМА», г. Москва. ORCID iD: 0000-0001-5138-5519. E-mail: guschina_e@pikfarma.ru

Журавская Наталья Викторовна – рук-ль медицинского отдела, ООО «ПИК-ФАРМА», г. Москва. ORCID iD: 0000-0001-9586-4298. E-mail: zhuravskaya@pikfarma.ru

Макарова Марина Николаевна – д-р мед. наук, директор, АО «НПО “ДОМ ФАРМАЦИИ”», г.п. Кузьмолловский, Ленинградская обл. ORCID iD: 0000-0003-3176-6386. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

Макаров Валерий Геннадиевич – д-р мед. наук, профессор, науч. рук-ль АО «НПО “ДОМ ФАРМАЦИИ”», г.п. Кузьмолловский, Ленинградская обл. ORCID iD: 0000-0002-2447-7888. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru

Фенозановая кислота – действующее вещество оригинального отечественного лекарственного препарата Дибуфелон®, зарегистрированного в РФ и разрешенного для медицинского применения у человека как противоэпилептическое средство¹. Соединение является синтети-

ческим антиоксидантом из класса пространственно-затрудненных фенолов, его фармакологическое действие связано с нормализацией процессов возбуждения и торможения в головном мозге¹, что определяет его клиническое

¹ Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Дибуфе-

лон®. https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2827f216-7ac0-4619-88d8-307518b692f7&t= (дата обращения 12.2023).

применение, вплоть до включения препаратов фенозановой кислоты в базовую противозлептическую терапию [1, 2].

Поскольку сведения о доклинических и клинических исследованиях фенозановой кислоты в доступной научной литературе весьма ограничены [3-5], углубленные пострегистрационные исследования этого отечественного лекарственного препарата, позволяющие совершенствовать его клиническое применение, представляются актуальной задачей.

Цель данной работы – анализ токсических свойств, иммуноотоксичности, токсикокинетики и элементов развития лекарственной зависимости, оценка возможных канцерогенных свойств препарата фенозановой кислоты на половозрелых собаках при многократном пероральном введении с периодом отсроченного наблюдения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. В эксперименте были использованы собаки породы бигль обоих полов (питомник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»), в возрасте 9-12 мес (на начало эксперимента). Исследование было одобрено для проведения биоэтической комиссией (БЭК) АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол БЭК от 13.08.2021 № 1.41/21), а его дизайн соответствовал регуляторным требованиям².

Животных содержали в стандартных условиях согласно регуляторным документам³, в вольерах, группами от 2 до 5 особей одного пола, в контролируемых условиях окружающей среды (при 15–21 °С и относительной влажности воздуха 30–70%, NH₃ ≤ 10 мг/м³, CO₂ ≤ 0,15 об.%), светового режима (12 ч света и 12 ч темноты) и воздухообмена (около 15 объемов помещения в час). Минимальная площадь пола на одно животное соответствовала нормативной документации⁴, в

качестве подстилки использовали древесные пеллеты.

В эксперимент переданы клинически здоровые животные (на основании клинического осмотра, выполняемого квалифицированным ветеринарным врачом), которых после распределения по группам до начала эксперимента содержали 5 дней для адаптации к условиям эксперимента. Во время этого периода у животных каждый день контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Так как собаки обладают выраженной иерархией внутри стаи [6], во избежание социальных конфликтов, распределение по группам осуществляли с учетом уже сложившихся социальных групп и массы тела животных внутри этих групп.

Кормление животных сухими кормами марок «ProBalance» для взрослых собак средних пород (ООО «Aller Petfood») и «Наша Марка» (АО «Гатчинский комбикормовый завод»), приготовленных по ГОСТ⁵, проводили два раза в день, в первой и во второй половине дня, в соответствии с установленными нормами кормления. В качестве докорма животные получали лакомства для собак и морковь. Животные были лишены утренней порции корма перед взятием образцов крови (в том числе перед первым и последним введением в связи с отбором проб крови для оценки фармакокинетических параметров), проведением наркотизации для ЭКГ и эвтаназией. Воду собаки получали без ограничений.

Тестируемый препарат – Дибуфелон® (МНН: фенозановая кислота), капсулы 200 мг (ООО «ПИК-ФАРМА», Россия, серия Н010221D).

Способ введения и выбор доз. В проведенном исследовании за высшую терапевтическую дозу (ВТД) для собак принята доза 24 мг/кг, выбранная на основании пересчета высшей терапевтической дозы ВТД для человека (800 мг⁶) с учетом межвидовых коэффициентов⁷.

Препарат был изучен в дозах 24 мг/кг (1 ВТД), 60 мг/кг (2,5 ВТД) и 120 мг/кг (5 ВТД). Введение препарата осуществляли в виде суспензии содержимого капсул в инертном носителе (1% растворе крахмала, аналогично способу введения в работе [10], концентрация дозируемых суспензий по действующему веществу состав-

² OECD (2018), Test No. 452: Chronic Toxicity Studies, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4.

Межгосударственный стандарт ГОСТ 32519-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Изучение хронической токсичности при внутрижелудочном поступлении».

Рекомендация ЕАЭК № 33 от 22.12.2020 «Руководство по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов».

³ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях,

Санитарно-эпидемиологические правила СП 2.2.1.3218-14

⁴ Белозерцева ИВ, Блинов ДВ, Красильщикова МС, ред. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. М.: ИРБИС; 2017.

⁵ ГОСТ Р 55453-2013 «Корма для непродуктивных животных. Общие технические условия»

⁶ Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Дибуфелон®. – URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2827f216-7ac0-4619-88d8-307518b692f7&t= (дата обращения 12.2023).

⁷ Guidance for industry. Estimating the maximum safe starting dose for initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. US Department of health and human services. FDA. CDER. 2005. 27 p.

ляла 24 мг/мл, 60 мг/мл и 120 мг/мл, объём введения – 1 мл/кг веса животного), перорально, один раз в день, ежедневно в течение 270 дней.

Контрольные животные получали перорально носитель по аналогичной схеме и в объеме 1 мл/кг.

Дизайн исследования по оценке безопасности. При планировании комплексного исследования были приняты во внимание современные нормы биоэтики и основные принципы «3R», предполагающие использование минимального количества животных [7], по ряду элементов дизайн был близок к исследованиям со схожими целями и задачами (например, [8-10]).

Исследование включало оценку общетоксических свойств исследуемого препарата, его влияние на иммунокомпетентные органы (для выявления потенциального иммунотоксического действия⁸), канцерогенное действие, возможная способность вызывать синдром отмены, а также отбор образцов крови для изучения основных токсикокинетических параметров.

В исследовании участвовали четыре группы животных, группа 1 – 2 самца и 2 самки, животные получали носитель (1% раствор крахмала), группы 2-4 – по 5 самцов и 5 самок в каждой группе, животные получали тестируемый препарат в дозах 24, 60 и 120 мг/кг соответственно. По 2 животных каждого пола из каждой экспериментальной группы, получавших тестируемый препарат, были на отсроченном наблюдении (30 сут).

Препарат вводили перорально, 1 раз/сут в течение 270 сут ежедневно, осуществляли еженедельное взвешивание животных на протяжении всего эксперимента (весы СКЕ-150-4050, ООО «Скейл Энтерпрайз», Россия).

Регистрацию развития сроков интоксикации (клиническое наблюдение) за животными проводили ежедневно: в первые 3 дня эксперимента в течение 3-4 часов с момента введения исследуемых объектов (для уточнения времени, в течение которого наступает пик проявления токсических явлений); далее – с учетом ориентировочного времени проявления токсических явлений.

Клинический осмотр проводили еженедельно.

В первый месяц введения оценку потребления корма и воды проводили 1 раз в неделю. Животных во время утреннего кормле-

ния помещали в индивидуальные клетки; выдавали предварительно взвешенную порцию корма в соответствии с ежедневным рационом; фиксировали факт потребления всей порции корма в течение часа (принято за норму); если животные не доедали весь корм, остатки взвешивали на весах ВК-300 (ЗАО «Масса-К» Санкт-Петербург, Россия). Оценку потребления воды проводили на вольер содержания за 2 часа. Поскольку в первый месяц введения отклонений по потреблению воды не было зарегистрировано, далее оценку потребления воды проводили 1 раз в месяц, регистрацию потребления корма продолжали проводить еженедельно на протяжении всего эксперимента.

Анализ крови проводили до начала введения (-2 день эксперимента), на 90, 270 и 300 сут эксперимента. В дни взятия крови животным был установлен внутривенный катетер 22G (KD Medical GmbH Hospital Products, Германия) в латеральную подкожную вену грудной конечности для отбора образцов крови в объеме 0,2 мл для клинического анализа крови, 0,7 мл для анализа параметров гемостаза и 3,5 мл для изучения биохимических показателей крови. Клинический анализ крови (гематологический анализатор Mythic 18 Vet, Orphee SA, Швейцария) включал определение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, гематокрита, количества лейкоцитов, количества тромбоцитов, лейкоцитарной формулы. В рамках оценки иммунотоксичности были проанализированы абсолютные значения лейкоцитов: лимфоциты, моноциты, гранулоциты. Поскольку были выявлены клинически значимые изменения по «красной» крови (для образцов, полученных на 90 и 270 сут относительно исходных данных), дополнительно были проанализированы: средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, ширина распределения эритроцитов по объему.

Измерение параметров гемостаза (коагулометр АПГ4-02-П, ООО «ЭМКО», Россия), определяли протромбиновое время (ПВ) и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ).

Биохимические показатели сыворотки крови (биохимический анализатор Random Access A-25, BioSystems, Испания, реагенты фирмы BioSystems, Испания) включали следующие параметры: аланинамино-трансфераза (АЛТ), аспартатамино-трансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), общий белок, альбумин (А), глобулины (G), креатинин, мочевины, общий

⁸ OECD (2008) Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents No 407.

ГОСТ Р 58173-2018 Средства лекарственные для медицинского применения. Исследования иммунотоксичности лекарственных средств, предназначенных для человека.

ICH S8 Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals. CHMP/167235/2004. EMA; 2006.

билирубин, общий холестерин, триглицериды, глюкоза (аналогично исследованиям [8-10]).

На 270 и 300 сут было проведено исследование физико-химического состава мочи по показателям кровь, белок, глюкоза, билирубин (с помощью качественных реакций), относительная плотность (рефрактометр AMTAST VUR3T, «AMTAST», США) и pH (диагностические тест-полоски, DF, Китай).

Регистрацию параметров электрокардиограммы (ЭКГ), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и артериального давления (АД, прибор Zoomed BPM-2, Zoomed, Россия) проводили до введения и на 270 сут. Для регистрации ЭКГ и АД животных предварительно наркотизировали (препаратами Медитин (ООО «Апиценна», Россия) в дозе 0,004 мг/кг при внутримышечном введении и Пропофол каби (ФРЕЗЕНИУС КАБИ, Австрия) в дозе 1 мг/кг при внутривенном введении), что допустимо согласно регуляторному документу⁹.

Регистрацию ЭКГ проводили с помощью компьютерного электрокардиографа для ветеринарии «Поли-спектр-8В» (ООО «Нейрософт», Россия) и прижимных электродов. ЭКГ была записана в течение 1 минуты и проанализирована в отведении II. Оценивали следующие показатели: ЧСС, RR (мс), P (мс), PQ (мс), QRS (мс), QT (мс). Регистрацию АД проводили с помощью прибора Zoomed BPM-2 (Zoomed, Россия). Измерение АД включало в себя регистрацию систолического и диастолического артериального давления (САД и ДАД). Манжету для измерения накладывали на предплечье. У каждого животного делали три измерения (интервал между измерениями не менее 2-х минут), затем вычисляли среднее САД и ДАД.

Потенциальную способность препарата вызывать развитие лекарственной зависимости оценивали по выраженности синдрома отмены после прекращения введения. С этой целью у всех «оставленных» животных проводили:

- регистрацию поведенческих отклонений (в течение 7 дней до окончания введения тестируемого препарата и в течение 7 дней после окончания введения регистрировали любые неврологические и поведенческие отклонения, которые могли указывать на наличие синдрома отмены - например, тремор, судороги, встряхивания, вздрагивания, стук зубами, почесывания, чихания, изменения в походке, положении тела, реакции на прикосновение, вокализация);

- регистрацию температуры тела (на 269-й и на 271-й дни с помощью ректального термомет-

ра (ректального датчика) и ветеринарного монитора пациента Zoomed IM-10, ЗАО «Ист Медикал», Россия);

- регистрацию АД (на 269-й и 271-й дни).

Три животных каждого пола из каждой экспериментальной группы и все животные контрольной группы были эвтаназированы на 271 сут эксперимента, оставшиеся – на 301 сут эксперимента.

Этаназию животных проводили передозировкой анестетиком (поочередное внутривенное введение препаратов Трамадол, Пропофол и Ридилат в дозах в два-три раза превышающих терапевтические) с последующим удалением жизненно важных внутренних органов¹⁰.

Патоморфологическое исследование включало в себя некропсию, макроскопическое исследование, взвешивание внутренних органов и гистологический анализ.

Для выявления местнораздражающего действия препарата (аналогично работам [8, 9]) проводили патоморфологическое исследование органов желудочно-кишечного тракта (ротовая полость, пищевод, желудок, кишечник).

Потенциальное иммунотоксическое действие (как и в исследованиях [8, 9]) оценивали у всех животных по показателям общего количества лейкоцитов в крови, лейкоформуле, абсолютным дифференциальным показателям лейкоцитов, уровню глобулинов, по результатам патоморфологического исследования лимфоидных органов (тимус, селезенка, подчелюстные и желудочные лимфатические узлы) и анализа массовых коэффициентов органов (тимус, селезенка)¹¹.

При проведении клинических наблюдений/осмотров, а также при некропии животные были осмотрены на предмет наличия любых новообразований для оценки возможных канцерогенных свойств исследуемого препарата.

Токсикокинетическое исследование. Кровь (в объеме 2,0 мл через внутривенный катетер 22G, KD Medical GmbH Hospital Products, Германия, установленный в латеральную подкожную вену грудной конечности) забирали у всех самцов из каждой группы №№ 1–4 на 1–2 сут, и 270–271 сут эксперимента на следующих временных точках: до введения препарата, через 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 24 ч после введения препарата, с последующим получением плазмы крови (ан-

⁹ Guideline I.C.H.N.T. The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (Qt Interval Prolongation) by human pharmaceuticals S7B – 2005.

¹⁰ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях

¹¹ ICH S8. Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals. CHMP/167235/2004. EMA; 2006.

ГОСТ Р 58173-2018. Средства лекарственные для медицинского применения. Исследования иммунотоксичности лекарственных средств, предназначенных для человека.

тикоагулянт – гепарин, пробирки IM-PROVACUTER, Guangzhou Improve Medical Instruments Co., LTD, Китай, центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин с использованием центрифуги LMC-3000, ООО «BioSan», Латвия).

Определение содержания фенозановой кислоты в биологических образцах (плазме крови собак) выполнено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) с помощью предварительно разработанной и валидированной методики [11].

Анализ данных. Статистическому анализу были подвергнуты данные, полученные от животных, получавших тестируемый препарат в период введения. При наличии исходных данных (фоновые значения), показатели, полученные в ходе эксперимента, сравнивали с исходными. Для всех данных применена описательная статистика, включающая проверку на соответствие закону нормального распределения (по критерию Шапиро–Уилка), расчет среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Оценку межгрупповых различий (при уровне значимости $p=0,05$) данных с признаками нормального распределения проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим межгрупповым сравнением с использованием теста Тьюки (*post-hoc* Tukey's test); оценка данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, выполнена с применением критерия Краскела–Уоллиса. Статистический анализ выполнен с помощью лицензионного программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США).

Для расчета фармакокинетических параметров (максимальная концентрация C_{max} , время достижения максимальной концентрации T_{max} , площадь под кривой «концентрация–время» AUC, среднее время удерживания MRT и период полувыведения $T_{1/2}$) применен внемоделный метод статистических моментов [12] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel; сравнение исследуемых фармакокинетических параметров проведено с помощью ANOVA с применением параметрических (двухвыборочный t-тест для средних, для параметров C_{max} , AUC, C_{max}/AUC_{0-t}) и непараметрических (тест Манна-Уитни, для параметров T_{max} , MRT, $T_{1/2}$) методов (согласно рекомендациям¹²).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Токсические свойства

Средняя масса тела собак на начало эксперимента составляла: $12,3 \pm 0,5$ кг (самцы) и $11,6 \pm 0,2$ кг (самки). В период введения и период отсроченного наблюдения динамика массы тела самцов и самок всех групп характеризовалась физиологическими сезонными колебаниями; для животных, получавших тестируемый препарат, была сопоставима с показателями группы контроля. Влияния препарата на динамику массы тела и потребление корма не выявлено. Клиническую картину интоксикации наблюдали на протяжении всего периода наблюдения: в период введения для дозы 24 мг/кг выявлены единичные случаи тремора в покое, единичные случаи отказа или уменьшения потребления корма; для дозы 60 мг/кг – тремор в покое (до 100% животных) и единичные случаи отказа от корма, для дозы 120 мг/кг – тремор в покое (до 100% животных), единичные случаи незначительного угнетения поведения и отказ от корма; в период отсроченного наблюдения для дозы 24 мг/кг – единичные случаи отказа или уменьшения потребления корма, для дозы 60 мг/кг – единичный случай тремора в покое, для дозы 120 мг/кг – 4 дня после окончания введения тремор в покое, далее норма (табл. 1. «Основные признаки интоксикации (тремор) у самцов (♂) и самок (♀), получавших тестируемый препарат, период введения и период отсроченного наблюдения»).

У одного самца из группы 2 (получавших препарат в дозе 24 мг/кг, самец 2.4) было отмечено угнетение поведения (начиная с 63-го дня эксперимента), в последующие дни отмечена дрожь в покое, а также повышение температуры тела до $39,2^\circ\text{C}$. Животное было выведено из эксперимента с 71-го по 97-й дни эксперимента для проведения терапии и дальнейшего восстановления. На 98-й день эксперимента животное было возвращено в эксперимент и продолжило получать препарат в соответствии с дизайном эксперимента. На 118-119 дни эксперимента у него вновь было отмечено угнетение поведения, признаки выраженной болезненности в области брюшной полости (вздутый живот) и повышение температуры тела до $39,9^\circ\text{C}$. Далее, начиная с 120-го дня, животное находилось на терапии в ветеринарной службе. Учитывая, что при отмене введения тестируемого препарата, состояние животного постепенно нормализовалось, было принято решение об исключении животного из эксперимента (без эвтаназии). Выявленные признаки интоксикации у данного животного оценены как индивидуальная

¹² Решение Совета ЕЭК № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского Экономического Союза» от 03.11.16.

Таблица 1

Table 1

Основные признаки интоксикации (тремор) у самцов (♂) и самок (♀), получавших тестируемый препарат, отмеченные в период введения и период отсроченного наблюдения

Main signs of intoxication (tremor) in males (♂) and females (♀) receiving the test drug, marked during administration period and delayed observation period

Дни Days	Препарат, доза, пол и количество (n) животных Medicinal product, dose, sex and number (n) of animals			
	Контроль Control	24 мг/кг 24 mg/kg	60 мг/кг 60 mg/kg	120 мг/кг 120 mg/kg
	n=4 (♂+♀)	n=10 (♂+♀)	n=10 (♂+♀)	n=10 (♂+♀)
1	–	1	10*	10*
2	–	–	10*	10*
7	–	–	–	–
35	–	–	1	3
58	–	2	4	2
69	–	1	1	4
112	–	–	5	9*
119	–	–	5	7*
156	–	3**	8*	8*
198	–	1**	9*	10*
225	–	5**	6	8*
270	–	–**	10*	10*
	n=0 (♂+♀)	n=3 (♂+♀)	n=4 (♂+♀)	n=4 (♂+♀)
273	–	–	1	2
275	–	–	–	–

Примечания: данные представлены в формате – количество животных в группе, у которых отмечен тремор. * Уровень значимости $p < 0,05$, статистически значимые отличия от группы контроля, критерий Фишера. ** Для группы 2 $n=9$ поскольку животное 2.4 выведено из эксперимента в связи с индивидуальной непереносимостью препарата.

Note: data are presented in the format number of animals in the group with tremor. * Probability level $p < 0.05$, statistically significant differences from control group, Fisher's test. ** For Group 2, $n = 9$ since animal 2.4 was withdrawn from the experiment due to individual intolerance to the drug.

непереносимость тестируемого препарата. Во всех остальных случаях, наблюдаемые токсические проявления не имели критичного характера для благополучия животных, продолжали введение препарата без изменения дозы и/или режима дозирования и без выведения животных из эксперимента. Не было отмечено усиления тяжести или частоты проявления наблюдаемых нежелательных явлений (тремор, отказ от корма, угнетение поведения) в ходе длительного (270-е сут) введения исследуемого препарата.

Результаты клинического анализа крови выявили влияние препарата в период введения на показатели «красной» крови (на 90-е и 270-е сут). В группах самцов и самок, получавших тестируемый препарат, выявлено статистически значимое снижение гематокрита, уровня эритроцитов и гемоглобина по сравнению с исходной точкой (критерий Тьюки, таблица 1, $p < 0,05$). Снижение показателей «красной крови» было более выраженным в группе максимальной дозы. При анализе дополнительных пара-

метров «красной крови» у самцов и самок, выявлено статистически значимое снижение среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, снижение ширины распределения эритроцитов по объему (критерий Тьюки, $p < 0,05$). В период отсроченного наблюдения влияния тестируемого препарата на показатели клинического анализа крови не выявлено.

Показатели гемостаза находились в границах физиологических норм для всех групп экспериментальных животных в период введения и период отсроченного наблюдения.

По результатам биохимического анализа крови в период введения в группах самцов (на всех дозах) и самок в максимальной дозе выявлено снижение содержания альбуминов, в группах самцов максимальной дозы выявлено снижение общего белка. В группах самцов и самок средней и максимальной доз выявлено снижение холестерина. Отношение А/Г в группах самцов средней и максимальной доз было снижено (на 23-27%) относительно исходных

Таблица 2

Table 2

Основные показатели клинического и биохимического анализов крови собак, получавших препарат фенозановой кислоты

Main clinical and biochemical parameters of blood of dogs treated with phenosan acid product

Показатель Parameter	Препарат, доза, пол и количество (n) животных Medicinal product, dose, sex and number (n) of animals							
	Контроль, n=2 Control		24 мг/кг, n=4 24 mg/kg		60 мг/кг, n=5 60 mg/kg		120 мг/кг, n=5 120 mg/kg	
	Самцы Male	Самки Female	Самцы Male	Самки Female	Самцы Male	Самки Female	Самцы Male	Самки Female
Результаты биохимического анализа крови (-2 сут эксперимента) Blood biochemistry results (Day -2)								
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, $\mu\text{mol/L}$	81.8; 76.2	80.6; 80.5	89.2 \pm 6.4	85.1 \pm 1.6	76.1 \pm 2.8	74.6 \pm 2.0	85.7 \pm 2.6	87.7 \pm 4.8
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	4.72; 4.74	4.59; 4.02	6.68 \pm 0.65	4.46 \pm 0.34	4.70 \pm 0.35	3.87 \pm 0.34	5.31 \pm 0.4 6	5.25 \pm 0.06
Аспарагиновая трансаминаза, Ед/л Aspartate aminotransfer- ase, U/L	28.9; 36.3	37.2; 38.2	44.4 \pm 1.7	38.1 \pm 1.4	47.3 \pm 2.4	39.5 \pm 1.7	47.0 \pm 2.9	45.0 \pm 2.6
Аланиновая трансаминаза, Ед/л Alanine aminotransfer- ase, U/L	57.0; 53.5	39.8; 44.6	55.1 \pm 6.5	48.5 \pm 2.6	53.9 \pm 3.0	48.9 \pm 3.3	56.2 \pm 2.7	45.8 \pm 1.8
Щелочная фосфатаза, Ед/л Alkaline phosphatase, U/L	132; 185	77; 108	136 \pm 24	213 \pm 17	162 \pm 11	125 \pm 21	143 \pm 12	151 \pm 12
Билирубин общий, мкмоль/л Total bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	1.74; 1.55	2.67; 2.58	1.52 \pm 0.17	0.74 \pm 0.22	1.25 \pm 0.10	2.61 \pm 0.08	1.40 \pm 0.25	2.99 \pm 1.10
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	5.72; 5.36	4.95; 4.37	6.65 \pm 0.23	6.17 \pm 0.20	4.93 \pm 0.2 8	6.54 \pm 0.22	6.09 \pm 0.3 4	6.61 \pm 0.39
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	0.45; 0.46	0.42; 0.31	0.58 \pm 0.04	0.71 \pm 0.04	0.44 \pm 0.0 3	0.55 \pm 0.05	0.46 \pm 0.0 2	0.55 \pm 0.03
Общий белок, г/л Total protein, g/L	60.7; 55.4	56.4; 58.3	60.9 \pm 1.2	60.1 \pm 0.5	56.7 \pm 1.1	61.1 \pm 2.0	57.3 \pm 1.0	59.7 \pm 1.3
Альбумин (А), г/л Albumin (A), g/L	34.2; 34.8	35.4; 35.7	36.0 \pm 1.1	36.0 \pm 0.31	33.3 \pm 0.9 1	35.6 \pm 0.9	34 \pm 0.4	35.2 \pm 0.74
Глобулины (G), г/л Globulins (G), g/L	26.5; 20.6	21.0; 22.6	24.9 \pm 0.47	24.1 \pm 0.34	23.4 \pm 0.3	25.5 \pm 1.44	23.3 \pm 0.7	24.4 \pm 1.0
Отношение А/Г A/G Ratio	1.29; 1.69	1.69; 1.58	1.45 \pm 0.07	1.50 \pm 0.027	1.42 \pm 0.0 4	1.41 \pm 0.07	1.46 \pm 0.0 3	1.45 \pm 0.06
Глюкоза Glucose	5.77; 5.95	5.67; 5.21	5.62 \pm 0.25	5.98 \pm 0.22	6.19 \pm 0.1 3	5.61 \pm 0.22	6.19 \pm 0.1 0	5.22 \pm 0.16
Результаты биохимического анализа крови (270 сут эксперимента) Blood biochemistry results (Day 270)								
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, $\mu\text{mol/L}$	82.7; 100.1	67.5; 55.8	90.3 \pm 2.0	81.1 \pm 5.3	83.5 \pm 3.9	78.5 \pm 3.4	92.2 \pm 2.5	90.5 \pm 2.3
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	3.53; 4.45	4.48; 4.17	5.19 \pm 0.39	4.62 \pm 0.09	3.77 \pm 0.23	3.77 \pm 0.23	4.16 \pm 0.18	4.15 \pm 0.33

Таблица 2. Продолжение

Table 2. Continuation

Аспарагиновая трансаминаза, Ед/л Aspartate aminotransferase, U/L	33.6; 38.6	36.8; 32.1	37.3±0.8	30.9±1.1	36.6±2.0	34.3±1.5	34.7±2.1*	37.0±3.5
Аланиновая трансаминаза, Ед/л Alanine aminotransferase, U/L	43.4; 63.3	54.6; 45.2	57.2±4.1	51.4±2.5	52.1±3.0	53.9±3.6	53.3±0.5	58.2±2.9*
Щелочная фосфатаза, Ед/л Alkaline phosphatase, U/L	137; 218	187; 155	116±16	171±12	162±17	191±10*	154±20	192±12
Билирубин общий, мкмоль/л Total bilirubin, μmol/L	2.61; 2.83	2.18; 3.03	2.50±0.16	2.70±0.25	2.57±0.29	2.29±0.12	2.38±0.33	1.97±0.32
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	4.21; 4.44	5.64; 5.37	4.80±0.10	4.88±0.61	3.64±0.27	4.09±0.12	3.76±0.44*	5.19±0.88
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	0.18; 0.17	0.46; 0.64	0.33±0.05*	0.52±0.08	0.28±0.07*	0.54±0.06	0.27±0.03*	0.58±0.04
Общий белок, г/л Total protein, g/L	57.2; 61.9	56.7; 58.0	58.9±0.3	57.1±1.3	57.4±2.2	59.5±1.0	51.4±1.3*	58.5±1.7
Альбумин (А), г/л Albumin (A), g/L	35.9; 33.4	28.9; 32.3	31.2±1.0	31.3±0.5	29.8±1.0	33.5±0.8	26.5±1.0*	30.8±1.7*
Глобулины (G), г/л Globulins (G), g/L	21.3; 28.5	27.8; 25.7	27.8±0.8	25.8±1.1	27.6±1.6	26.0±0.4	24.9±0.5	27.7±1.0
Отношение А/Г A/G Ratio	1.69; 1.17	1.04; 1.26	1.13±0.075*	1.22±0.057*	1.09±0.055*	1.29±0.036	1.06±0.031*	1.12±0.089*
Глюкоза Glucose	4.52; 4.24	4.99; 5.03	4.31±0.24	4.96±0.11	4.67±0.24	4.61±0.12	4.80±0.20*	5.08±0.17
Результаты клинического анализа крови (-2 сут эксперимента) Blood count results (Day -2)								
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leucocytes, 10 ⁹ /L	12.3; 8.5	7.8; 10.7	11.1±1.2	9.7±0.5	10.8±0.5	10.4±0.5	9.9±0.5	9.4±0.6
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	7.2; 10.5	7.4; 9.3	8.8±1.2	10.0±0.8	11.2±0.7	10.3±1.9	10.0±0.5	10.0±0.3
Моноциты, % Monocytes, %	4.5; 6.1	4;6; 1.0	4.6±0.2	5.2±0.1	5.4±0.1	4.5±0.3	5.7±0.3	5.7±0.2
Гранулоциты, % Granulocytes, %	88.3; 83.4	88.6; 84.6	86.6±1.3	84.8±0.9	83.4±0.7	85.2±1.9	84.3±0.7	84.5±0.4
Эритроциты, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /L	8.7; 7.6	8.6; 7.69	7.9±0.1	8.4±0.1	7.4±0.3	7.7±0.5	6.9±0.3	7.9±0.2
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	165; 154	173; 161	159±2.6	169±1.7	145±5.2	155±9.8	137±4.2	161±4.0
Гематокрит, % Hematocrit, %	56.2; 54.3	61.3; 57.5	56.9±0.0	59.7±0.0	51.1±0.0	55.2±0.0	48.2±0.0	56.8±0.0
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, пг Mean red blood cell haemoglobin, pg	19.1; 20.3	20.2; 20.9	20.0±0.1	20.1±0.2	19.7±0.1	20.5±0.2	20.1±0.5	20.2±0.3

Таблица 2. Продолжение

Table 2. Continuation

Ширина распределения эритроцитов по объему, % Red blood cell distribution width by volume.%	14.2; 14.0	14.1; 13.4	13.9±0.2	13.8±0.2	14.3±0.3	13.8±0.3	14.0±0.2	14.2±0.2
Результаты клинического анализа крови (270 сут эксперимента) Blood count results (Day 270)								
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leucocytes, 10 ⁹ /L	9.4; 6.7	7.0; 7.7	8.7±0.4	6.8±0.5*	9.5±0.2	7.0±0.6*	7.8±0.6	7.6±0.5
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	6.2; 7.3	9.8; 8.3	8.0±1.2	7.3±0.6	11.2±1.3	9.5±1.2	9.5±0.6	9.8±0.7
Моноциты, % Monocytes, %	1.5; 2.0	1.5; 2.1	1.8±0.2*	2.0±0.1*	2.5±0.2*	2.2±0.1*	2.4±0.2*	2.1±0.1*
Гранулоциты, % Granulocytes, %	92.3; 90.7	88.7; 89.6	90.3±1.4	90.7±0.6	86.3±1.2	88.3±1.2	88.1±0.6	88.1±0.7
Эритроциты, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /L	7.0; 7.56	6.4; 6.54	6.9±0.1*	6.0±0.2*	6.6±0.2*	6.7±0.1*	6.0±0.2*	6.0±0.1*
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	129; 141	125; 133	132±2.4*	116±3.3*	124±3*	130±3*	115±2*	120±2*
Гематокрит, % Hematocrit, %	48.9; 53.6	45.6; 49.5	50.3±0.0*	43.3±0.0*	48.0±0.0*	48.4±0.0*	45.5±0.0	44.6±0.0*
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, пг Mean red blood cell haemoglobin, pg	18.6; 18.7	19.5; 20.3	19.1±0.1*	19.1±0.1*	18.9±0.3*	19.3±0.1*	19.1±0.4*	20.1±0.2
Ширина распределения эритроцитов по объему, % Red blood cell distribution width by volume, %	13.2; 13.2	12.7; 11.8	12.5±0.3*	12.4±0.1*	12.8±0.4*	12.5±0.1*	12.5±0.2*	12.4±0.1*
Результаты клинического анализа крови (300 сут эксперимента) Blood count results (Day 300)								
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leucocytes, 10 ⁹ /L	-	-	8.1	8.0; 8.2	9.9; 6.4	8.7; 9.4	8.1; 7.5	8.3; 6.7
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	-	-	5.5	5.8; 4.2	6.3; 8.7	6.9; 11.2	7.6; 9.0	5.9; 8.9
Моноциты, % Monocytes, %	-	-	1.3	1.3; 1.1	1.5; 1.7	1.6; 1.2	1.0; 1.6	1.1; 1.8
Гранулоциты, % Granulocytes, %	-	-	93.2	92.9; 94.7	92.2; 89.6	91.5; 87.6	91.4; 89.4	93.0; 89.3
Эритроциты, 10 ¹² /л Red blood cells, 10 ¹² /L	-	-	6.49	7.05; 6.77	7.11; 7.01	6.06; 6.47	7.08; 6.63	6.26; 6.77
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	-	-	131	137; 132	142; 134	124; 133	130; 131	126; 135
Гематокрит, % Hematocrit, %	-	-	46.8	50.5; 48.7	50.9; 47.9	43.2; 47.8	46.1; 46.7	47.2; 49.1
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, пг Mean red blood cell haemoglobin, pg	-	-	20.2	19.4; 19.5	20.0; 19.1	20.5; 20.6	18.4; 19.8	20.1; 19.9

Таблица 2. Окончание

Table 2. End

Ширина распределения эритроцитов по объему. % Red blood cell distribution width by volume. %	-	-	12.4	12.3; 12.6	12.7; 13.5	12.0; 12.1	13.0; 12.4	12.1; 13.3
---	---	---	------	------------	------------	------------	------------	------------

Примечание: данные представлены в формате $M \pm SEM$ – среднее значение и стандартная ошибка среднего, для контрольной группы – индивидуальные значения. Для самцов группы 2 $n=4$ поскольку животное 2.4 выведено из эксперимента в связи с индивидуальной непереносимостью препарата. На 300-й день для контрольной группы не определяли (-), для дозы 24 мг/кг самцов $n=1$ (поскольку животное 2.4 выведено из эксперимента), для остальных случаев – $n=2$. * Уровень значимости $p < 0,05$, статистически значимые отличия от исходного уровня, критерий Тьюки.

Note: data are presented as $M \pm SEM$ (mean and standard error of the mean), for control group – individual values. For Group 2 males, $n = 4$ since animal 2.4 was withdrawn from the experiment due to individual intolerance to the drug. Day 300 for control group not determined (-), for dose 24 mg/kg $n=1$ (since animal 2.4 was withdrawn from the experiment), for other cases $n=2$. * Probability level $p < 0.05$, statistically significant differences from basic level, Tukey's test.

Таблица 3

Table 3

Массовые коэффициенты основных органов собак, получавших препарат фенозановой кислоты

Relative weights of major organs of dogs treated with phenosan acid product

Основные органы Major organs	Массовый коэффициент (% от массы тела) в зависимости от применяемого препарата Relative organ weights (% of total body weight) according to the product received			
	Контроль, $n=2$ Control	Тестируемый препарат Tested drug		
		24 мг/кг, $n=3$ 24 mg/kg	60 мг/кг, $n=3$ 60 mg/kg	120 мг/кг, $n=3$ 120 mg/kg
271 сут эксперимента, самцы Day 271, males				
Сердце Heart	0.74; 0.83	0.89±0.07	0.95±0.03	0.87±0.02
Легкие с трахеей Lungs and trachea	0.82; 0.76	0.73±0.03	0.82±0.07	0.85±0.02
Тимус Thymus	0.060; 0.086	0.078±0.011	0.057±0.017	0.046±0.007
Печень Liver	3.52; 3.71	3.53±0.18	4.35±0.58	4.94±0.57
Селезенка Spleen	0.26; 0.22	0.32±0.05	0.26±0.02	0.25±0.03
Почки Kidneys	0.58; 0.47	0.48±0.01	0.54±0.04	0.48±0.05
Надпочечники Adrenal glands	0.012; 0.009	0.009±0.000	0.010±0.001	0.012±0.002
Головной мозг Brain	0.64; 0.70	0.63±0.02	0.74±0.07	0.72±0.04
Семенники Testes	0.113; 0.141	0.106±0.016	0.137±0.002	0.126±0.019
271 сут эксперимента, самки Day 271, females				
Сердце Heart	0.80; 0.76	0.75±0.06	0.80±0.02	0.81±0.02
Легкие с трахеей Lungs and trachea	0.79; 0.79	0.79±0.09	0.76±0.04	0.71±0.03

Таблица 3. Окончание

Table 3. End

Тимус Thymus	0.039; 0.047	0.076±0.004	0.060±0.017	0.045±0.018
Печень Liver	5.10; 4.07	4.02±0.19	3.84±0.13	4.14±0.23
Селезенка Spleen	0.28; 0.25	0.35±0.08	0.37±0.09	0.22±0.02
Почки Kidneys	0.42; 0.40	0.38±0.02	0.41±0.01	0.36±0.01
Надпочечники Adrenal glands	0.009; 0.011	0.01±0.000	0.007±0.001	0.009±0.001
Головной мозг Brain	0.56; 0.59	0.62±0.03	0.55±0.02	0.62±0.04
Яичники Ovaries	0.017; 0.015	0.011±0.001	0.008±0.001	0.011±0.002

Примечание. Данные представлены в формате $M \pm SEM$ – среднее значение и стандартная ошибка среднего, для контрольной группы – индивидуальные значения.

Note. Data are presented as $M \pm SEM$ (mean and standard error of the mean), for control group – individual values.

данных. По окончании периода отсроченного наблюдения клинически значимых изменений биохимических показателей крови не выявлено.

По результатам общего анализа мочи не выявлено клинически значимого влияния препарата на показатели общего анализа мочи, как по окончании периода введения, так и по окончании периода отсроченного наблюдения.

Исследуемый препарат не оказал влияния на ЭКГ, ЧСС, а также на АД у наркотизированных животных (как по сравнению с контрольной группой, так и по отношению к исходным данным). Показатели ЭКГ и АД находились в пределах физиологических норм для данного вида лабораторных животных [13].

Наиболее значимые параметры представлены в таблице 2 «Основные показатели клинического и биохимического анализов крови собак, получавших препарат фенозановой кислоты».

После прекращения введения тестируемого препарата в исследованном диапазоне доз не было выявлено каких-либо поведенческих изменений, которые могли бы свидетельствовать о развитии синдрома отмены. По показателям температуры тела, АД и потреблению корма и воды клинически значимых изменений у самцов и самок, получавших тестируемый препарат, после окончания введения не выявлено.

На 271-е и на 301-е сут эксперимента при патологоанатомическом исследовании по окончании периода введения в группах самцов средней и максимальной доз, отмечено повышение массовых коэффициентов печени (в средней дозе на 20 %, в максимальной дозе на 37%) без статистической значимости; по окончании периода отсроченного наблюдения влияния тестируемо-

го препарата на массовые коэффициенты органов не зарегистрировано (табл. 3 «Массовые коэффициенты основных органов собак, получавших препарат фенозановой кислоты»). Гистологическое строение органов соответствовало норме.

Местнораздражающее действие. На 271-е и на 301-е сут эксперимента у всех животных в месте введения (ротовая полость, пищевод, желудок) и в кишечнике макроскопически видимых изменений не обнаружено. Гистологическое строение желудка, тонкой и толстой кишки соответствовало норме.

Иммунотоксические свойства. Отличий от контроля по параметрам клинического и биохимического анализа крови (общее количество лейкоцитов, абсолютное количество лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, уровень глобулинов, табл. 2), массовым коэффициентам тимуса и селезенки (табл. 3) выявлено не было. Гистологическое строение лимфоидных органов (тимус, селезенка, околушные лимфатические узлы) у всех животных соответствовало норме. Полученные данные позволили сделать вывод об отсутствии иммунотоксического действия при курсовом введении препаратов в исследуемом диапазоне доз, как после окончания введения, так и после окончания отсроченного наблюдения.

Изменений, свидетельствующих о наличии канцерогенных свойств тестируемого препарата, не обнаружено.

У собак были зарегистрированы признаки интоксикации при введении преимущественно средней 60 мг/кг и максимальной дозы 120 мг/кг тестируемого препарата. Основными клиниче-

скими проявлениями токсических эффектов были: тремор в покое, единичные случаи незначительного угнетения поведения и отказ от корма. В группе минимальной дозы 24 мг/кг тестируемого препарата отмечены случаи тремора и снижение потребления или отказ от корма. Признаки интоксикации во всех группах тестируемого препарата постепенно разрешались в течение 4-5 дней после окончания введений.

Таким образом, данные полученные в ходе оценки общетоксических свойств препарата фенозановой кислоты, свидетельствовали, что токсические эффекты тестируемого препарата увеличивались с увеличением дозы препарата, достигая наибольшей выраженности в группе максимальной дозы. По совокупности полученных данных доза, не оказывающая явного нежелательного действия (NOAEL), не установлена.

Оценка токсикокинетики

Кинетика фенозановой кислоты в плазме крови после однократного и многократного (в течение 270 сут) введения препарата в трех дозах была характерной для лекарственных форм, применяемых перорально (рис. 1) – после введения наблюдали постепенный подъем концентрацией аналита в плазме крови, максимальную концентрацию фенозановой кислоты отмечали через 2-4 ч после введения, далее наблюдали постепенное ее снижение. К 24 ч после введения концентрация фенозановой кислоты составила около 16-50% от максимального уровня, что свидетельствовало о медленном выведении действующего вещества тестируемого препарата из системного кровотока собак. В нулевой точке (перед введением препаратов) исследование проб плазмы крови всех собак не выявило наличия определяемого соединения; значения концентраций аналита ниже НПКО принимали равными нулю. Фенозановая кислота не обнаружена ни в одной из проб, полученных от животных группы 1 в первый и последний дни введения, что свидетельствовало об отсутствии контаминации животных группы, получавшей контрольное вещество. Доказательство отсутствия контаминации важно для подтверждения корректности исследования токсикокинетики и в целом, исследования токсичности и безопасности тестируемого препарата¹³ [14].

Токсикокинетические профили фармакологического средства в крови при его пероральном введении охарактеризованы такими параметрами, как C_{max} , AUC, MRT, $T_{1/2}$, T_{max} ¹⁴, рассчитанными внемоделным методом статистических моментов [12]. Обобщенные данные по фармакокинетическим параметрам, полученным для исследованного препарата за весь период эксперимента, представлены в таблице 4.

Результаты оценки токсических свойств показали, что исследуемый препарат при многократном пероральном введении в течение 270-х сут в высшей терапевтической дозе и дозах, превышающих терапевтическую, оказал токсическое действие на организм лабораторных животных – выявлены тремор в покое, случаи незначительного угнетения поведения, снижения потребления или отказа от корма (для ВТД – единичные случаи). Исследуемый препарат не оказал местнораздражающего действия на слизистую оболочку желудка и кишечника. По данным проведенного исследования не установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (no observed adverse effect level, NOAEL), поскольку, по-видимому, она ниже минимально изученной дозы (24 мг/кг).

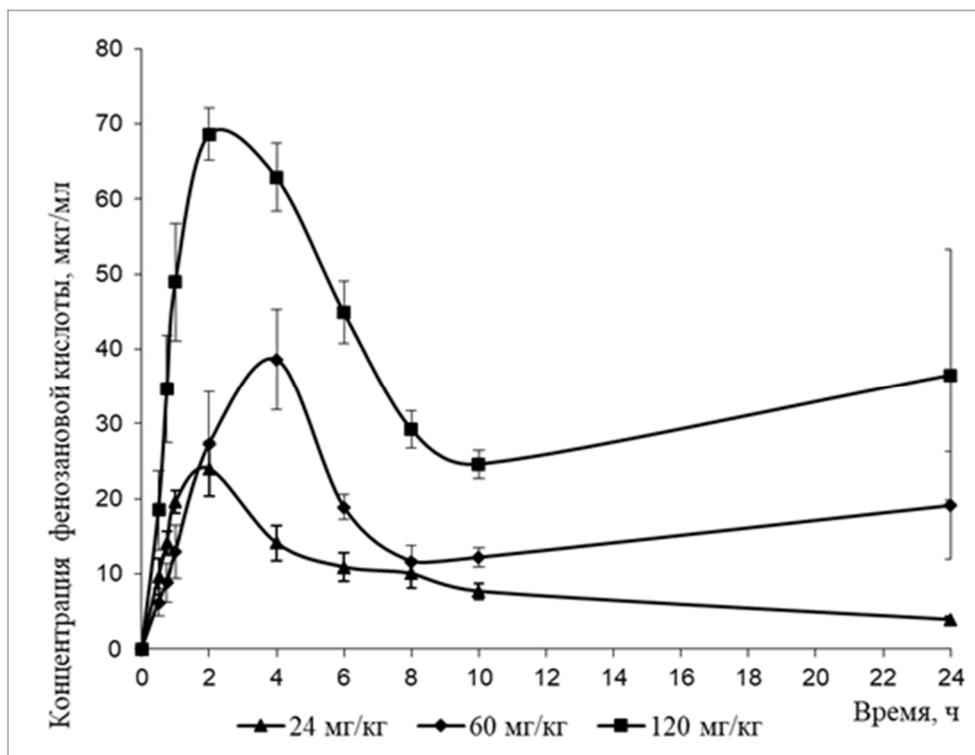
Целесообразность изучения более низких доз для установления NOAEL представляется сомнительной по ряду причин – в данном исследовании нежелательные явления для ВТД были редкими; выбор дозы (24 мг/кг) и принятие ее в качестве ВТД выполнено на основании максимальной суточной (не разовой) дозы, рекомендованной для применения у человека, с учетом межвидовых коэффициентов пересчета доз с человека на различные виды лабораторных животных, что является общепринятым, но все-таки достаточно условным и не лишенным погрешностей приемом. Таким образом, ВТД можно рассматривать как пограничную дозу между терапевтической и превышающей терапевтическую.

Кроме того, препарат зарегистрирован в РФ и рекомендован для медицинского применения у человека, поэтому углубленные пострегистрационные исследования безусловно важны, как мы отмечали ранее, но приоритетным является

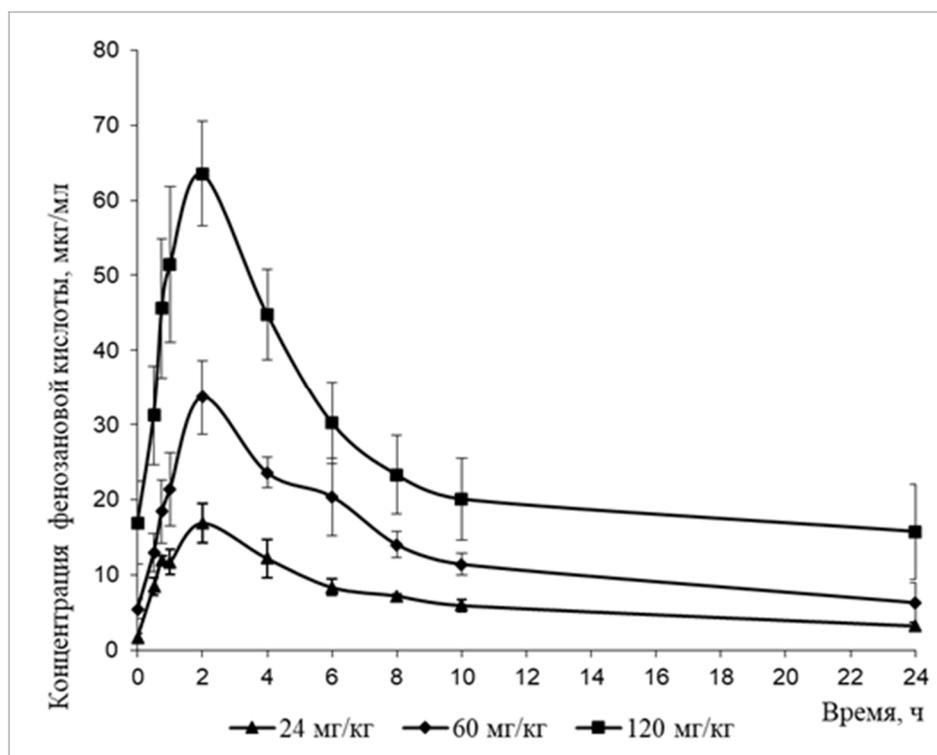
Guideline on evaluation of control samples in nonclinical safety studies: checking for contamination with the test substance. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP), London, UK (2005). www.ema.europa.eu

¹⁴ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Мионов А.Н. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

¹³ Рекомендациям ЕАЭК №10 от 21.05.2020 г. «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения».



А.



В.

Рис. 1. Фармакокинетические кривые фенозановой кислоты в плазме крови после однократного (А) и многократного (В) перорального введения тестируемого препарата в дозах 24, 60 и 120 мг/кг в линейных координатах (количество животных n=5, среднее значение и стандартная ошибка среднего $M \pm SEM$).

Fig. 1. Pharmacokinetic curves of phenosanic acid in dog plasma after single (A) and multiple (B) oral administration of the test product in the doses of 24, 60 and 120 mg/kg in linear coordinates (n=5 animals; $M \pm SEM$, mean and standard error of the mean).

Сводная таблица основных фармакокинетических параметров (количество животных $n=5$, самцы)Summary table of the main pharmacokinetic parameters ($n=5$ animals, males)

Сутки введения Day of administration	Доза, мг/кг Dose, mg/kg	Значения фармакокинетических параметров Values of pharmacokinetic parameters				
		C_{\max}^A , МКГ/МЛ C_{\max} , $\mu\text{g/mL}$	T_{\max}^B , ч T_{\max} , h	AUC_{0-24}^A , ч \times МКГ/МЛ AUC_{0-24} , h $\times\mu\text{g/mL}$	MRT^B , ч MRT, h	$T_{1/2}^B$, ч $T_{1/2}$, h
1	24	24.8 \pm 7.5	1.8 \pm 0.5	214.0 \pm 56.1	17.8 \pm 5.3	13.5 \pm 4.6
	60	45.0 \pm 11.4 ^C	3.2 \pm 1.1	422.7 \pm 140.0 ^C	53.8 \pm 39.0	36.6 \pm 26.7
	120	77.9 \pm 9.8 ^C	6.8 \pm 9.7	875.3 \pm 231.2 ^C	84.6 \pm 137.7	57.3 \pm 93.9
270	24	17.1 \pm 5.0	1.7 \pm 0.6	164.8 \pm 37.6	19.1 \pm 7.6	14.3 \pm 6.4
	60	38.1 \pm 6.6 ^C	2.8 \pm 1.8	326.4 \pm 95.3 ^C	16.1 \pm 9.1	11.4 \pm 5.3
	120	65.7 \pm 14.0 ^C	2.6 \pm 1.3	622.2 \pm 175.5 ^C	26.7 \pm 27.1	18.4 \pm 15.3

Примечания: данные представлены в формате $M \pm SEM$ – среднее значение и стандартная ошибка среднего; C_{\max} – максимальная концентрация; AUC – площадь под кривой «концентрация–время» в интервале дозирования 0–24 ч; MRT – среднее время удерживания; $T_{1/2}$ – период полувыведения. ^A – дисперсионный анализ (ANOVA) выявил влияние фактора «группа» («доза») после первого и после последнего введения на значения параметров C_{\max} и AUC_{0-24} ($p < 0,05$, примечание ^C). При сравнении критерием Стьюдента данных после первого и последнего введения для каждой дозы отличий не выявлено; ^B – влияние фактора «группа» на исследуемые показатели не выявлено (критерий Краскела-Уоллиса, $p > 0,05$); Критерий Манна-Уитни не показал отличий между первым и последним введением для каждой дозы; ^C – статистически значимые отличия от минимальной дозы в соответствующей день введения (критерий Тьюки, $p < 0,05$).

Note: data are presented as $M \pm SEM$ (mean and standard error of the mean). C_{\max} , maximum concentration; AUC , area under the curve; MRT , mean retention time; $T_{1/2}$, half-life time. ^A – analysis of variance (ANOVA) revealed the effect of the "group" ("dose") factor after the first and last administration on the C_{\max} and AUC_{0-24} parameters ($p < 0.05$, note ^C). When comparing the Student's criteria, there were no differences for each dose after the first and last administration; ^B – the influence of the "group" factor on the studied parameters was not detected (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$); Mann-Whitney test showed no difference between first and last dosing for each dose; ^C – statistically significant differences from the minimum dose on the corresponding day of administration (Tukey test, $p < 0.05$).

накопление и систематизация информации о его дальнейшем клиническом применении.

В ходе проведенного исследования кроме сравнительной оценки общетоксических свойств и местнораздражающего действия было изучено влияние препарата фенозановой кислоты на иммунокомпетентные органы с целью выявления возможного иммунотоксического действия¹⁵. Полученные результаты позволили заключить, что при введении в дозах, соответствующих 1, 2,5 и 5 ВТД, в течение 270-х сут препарат не оказал иммунотоксического действия. Не выявлено также канцерогенных свойств препарата фенозановой кислоты.

Продолжительный прием лекарственных средств центрального действия может вызвать развитие лекарственной зависимости в течение нескольких дней после отмены приема, на что могут указывать изменения температуры тела, массы тела, появление признаков тревожного поведения, судорожной активности. Такие симптомы, в частности, были описаны после

длительного введения собакам противосудорожных препаратов [15]. Отсутствие каких-либо поведенческих изменений, клинически значимых изменений температуры тела, АД и потребления корма и воды после прекращения введения тестируемого препарата в исследованном диапазоне доз свидетельствовало о том, что препарат фенозановой кислоты не вызывал развития синдрома отмены.

Были выявлены признаки интоксикации, которые увеличивались с увеличением дозы препарата, достигая наибольшей выраженности в группе максимальной дозы.

При анализе основных токсикокинетических данных фенозановой кислоты у собак после однократного введения препарата в трех дозах выявлено, что параметры, характеризующие степень биологической доступности препарата, C_{\max} и AUC_{0-24} , имели статистически значимые различия (критерий Тьюки, таблица 4, $p < 0,05$) в зависимости от введенной дозы препарата. С увеличением дозы наблюдали увеличение значений параметров C_{\max} и AUC_{0-24} , что позволило установить линейность фармакокинетики в исследованном диапазоне доз. Пара-

¹⁵ ICH S8 Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals. CHMP/167235/2004. EMA; 2006.

метры T_{max} , MRT и $T_{1/2}$ не имели статистически значимых отличий (критерий Краскела-Уоллеса, таблица 4, $p > 0,05$).

При сопоставлении фармакокинетических данных, полученных после однократного и многократного введения тестируемого препарата во всех исследуемых дозах, не выявлено статистически значимых отличий ни для одного из оцениваемых параметров (C_{max} , AUC_{0-24} - критерий Стьюдента, T_{max} , MRT и $T_{1/2}$ - критерий Манна-Уитни, $p > 0,05$).

После перорального введения тестируемого препарата собакам фенозановая кислота достаточно быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и определяется в плазме крови на протяжении 24 ч. Средние значения периода полувыведения составили более 11 часов, средние значения MRT – более 16 часов, что указывало на длительное нахождение исследуемого вещества в системном кровотоке животных. Средние значения C_{max} в плазме крови составили более 17 мкг/мл, средние значения T_{max} – около 2–3 ч. Длительное нахождение неизменного действующего вещества в системном кровотоке может быть связано с особенностями его связывания с белками плазмы крови и сравнительно высокой микросомальной стабильностью, выявленными при проведении соответствующих тестов *in vitro* [16]. Схожие особенности были выявлены при исследовании фармакокинетики препарата фенозановой кислоты на крысах [16], на собаках [11] и ранее на кроликах [17].

Необходимо подчеркнуть, что результаты оценки основных фармакокинетических параметров на собаках в данном исследовании близки к полученным нами ранее [16] и сопоставимы с данными для других видов лабораторных животных (крысы, кролики) [16, 17], но кардинально отличались по уровням C_{max} и AUC_{0-24} от результатов, полученных у человека (при сопоставимых значениях параметров T_{max} , MRT и $T_{1/2}$) [18]. Этот факт, подтверждаемый независимыми исследованиями на разных биологических видах, может быть связан с различием метаболизма у человека и животных, и с нашей точки зрения обуславливает необходимость более углубленного изучения фармакокинетики фенозановой кислоты у человека.

В целом, при многократном введении исследованного препарата в дозах 24, 60 и 120 мг/кг средние максимальные концентрации фенозановой кислоты в плазме крови собак составили около 17-78 мкг/мл. Приведенные уровни концентраций могут быть отнесены к токсичным, поскольку при введении изученных доз тестируемого препарата выявлены токсические эффекты препарата.

Соотнесение выявленных уровней плазменных концентраций и фармакокинетических кривых с моментом появления, нарастания и длительностью или выраженностью наблюдаемых токсических проявлений затруднительно, поскольку параметры фармакокинетики оценивали только в первый и последний дни введения, в то время, как нежелательные явления наблюдали и регистрировали в течение всего периода введения исследуемого препарата.

Таким образом, проведенное исследование токсических свойств, иммунотоксичности, токсикокинетики и элементов развития лекарственной зависимости, оценка возможных канцерогенных свойств препарата фенозановой кислоты на половозрелых собаках при многократном пероральном введении с периодом отсроченного наблюдения позволило сделать следующие выводы:

- Основными клиническими проявлениями токсических эффектов, зарегистрированными при введении преимущественно средней 60 мг/кг и максимальной дозы 120 мг/кг тестируемого препарата, были: тремор в покое, единичные случаи незначительного угнетения поведения и отказ от корма, которые постепенно разрешались в течение 4-5 дней после окончания введения.

- Тестируемый препарат не оказал влияния на массу тела животных, на потребление корма и воды, на показатели системы гемостаза, общего анализа мочи, ЭКГ и АД. Не выявлено клинически значимых изменений по результатам патоморфологического исследования; установлено, что тестируемый препарат не обладал местно-раздражающим и иммунотоксическим действием, канцерогенными свойствами; не вызывал синдром отмены. Отмечено влияние на ряд показателей клинического анализа крови (снижение гематокрита, уровня эритроцитов и гемоглобина, среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, снижение ширины распределения эритроцитов по объему), биохимического анализа крови (снижение содержания альбуминов, общего белка, холестерина, отношения А/Г, что свидетельствовало о снижении синтетической функции печени), отмечено повышение массовых коэффициентов печени (в средней дозе на 20%, в максимальной дозе на 37%) без статистической значимости.

- Основные фармако- и токсикокинетические параметры фенозановой кислоты после однократного и многократного введения тестируемого препарата в дозах 24, 60 и 120 мг/кг не имели статистически значимых различий, что свидетельствовало об отсутствии кумуляции действующего вещества в организме при мно-

гократном применении. Обнаруженные средние и максимальные концентрации фенозановой кислоты (17-78 мкг/мл) отнесены к токсическим, поскольку у животных в ходе эксперимента наблюдали токсические проявления.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при применении препарата фенозановой кислоты в клинической практике необходимо учитывать возможные побочные эффекты (неврологического и поведенческого характера), которые связаны с непосредственным фармакологическим профилем препарата.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все исследования были выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Проведение исследования было одобрено на заседании биоэтической комиссии (БЭК) АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»», протокол заседания БЭК от 13.08.2021 № 1.41/21.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией ООО «ПИК-ФАРМА». Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена без государственного бюджетного финансирования при финансовой поддержке ООО «ПИК-ФАРМА», Россия.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Косман В.М. – анализ методом ВЭЖХ-УФ, расчет и анализ фармакокинетических параметров, написание текста рукописи; Карлина М.В. – обсуждение результатов оценки фармако- и токсикокинетики; Мазукина Е.В. – координация планирования и выполнения исследовательской работы, сбор, анализ и интерпретация данных, обсуждение результатов оценки токсических свойств; Морозов С.В. – критический анализ дизайна исследования и рукописи; Гущина Е.Е. – согласование итоговой версии рукописи, для публикации; Макарова М.Н. – критический пересмотр содержания рукописи, Журавская Н.В. – анализ данных литературы и нормативных документов; Макаров В.Г. – критический пересмотр содержания и утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бурд С.Г., Лебедева А.В., Пантина Н.В., Рублева Ю.В., Пизова Н.В., Васильев С.В., Белова А.Н., Воробьева О.В. и др. Клинические результаты и перспективы применения фенозановой кислоты у взрослых пациентов с фокальной эпилепсией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021;121(10):52-59 [Burd S.G., Lebedeva A.V., Pantina N.V., Rubleva Yu.V., Pizova N.V., Vasil'ev S.V., Belova A.N., Vorobeva O.V., et al. Clinical results and prospects for the use of phenosanic acid in patients with focal epilepsy. *S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2021;121(10):52-59 (in Russ.)]. DOI: 10.17116/jnevro202112110152. EDN: TKWELY.
2. Воронкова К.В., Алиева А.М., Никитин И.Г., Мусина Г.М., Сурская Е.В., Зайцева О.С., Машкевич Н.Г., Гомонова Л.В. и др. Роль фенозановой кислоты в лечении пациентов с эпилепсией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2023;123(2):151-157 [Voronkova K.V., Alieva A.M., Nikitin I.G., Musina G.M., Surskaya E.V., Zaitseva O.S., Mashkevich N.G., Gomonova L.V., et al. The role of the phenosanic acid in the combined treatment of patients with epilepsy. *S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2023;123(2):151-157 (in Russ.)]. DOI: 10.17116/jnevro2023123021151. EDN: SSDKMR.
3. Беспалов В.Г., Александров В.А., Корман Д.Б. Антисканцерогенный эффект фенольного антиоксиданта фенозана (4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенилпропионовой кислоты) на спонтанный канцерогенез у крыс и мышей. *Сибирский онкологический журнал*. 2012;2(50):52-56 [Bespalov V.G., Alexandrov V.A., Korman D.B. Anticarcinogenic effect of antioxidant phenozan (4-oxy-3,5 ditert-butylphenylpropionic acid) on spontaneous carcinogenesis in rats and mice. *Siberian journal of oncology*. 2012; 2(50):52-56 (in Russ.)]. EDN: PBMFBZ.
4. Chasovskaya T.E., Plashchina I.G., Pal'mina N.P. Physicochemical alterations in liposomes induced by low concentrations of synthetic antioxidant potassium phenosan. *Dokl Phys Chem*. 2013;449:94-97. DOI: 10.1134/S0012501613040106. EDN: RFJVTD.
5. Яковлева А.А., Литвинова С.А., Воронина Т.А., Ивашова Д.М., Касабов К.А., Гущина Е.Е., Морозов С.В., Кудрин В.С. Изучение потенцирования эффектов вальпроевой кислоты и карбамазепина фенозановой кислотой с анализом нейрохимических показателей. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(12):31-37 [Yakovleva A.A., Litvinova S.A., Voronina T.A., Ivashova D.M., Kasabov D.M., Gushchina E.E., Morosov S.V., Kudrin V.S. Study of potentiation of valproic acid and carbamazepine by phenosanic acid and analysis of neurochemical parameters *Experimental and clinical pharmacology*. 2022;85(12):31-37 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-12-31-37. EDN: UAYIVL.
6. Мычко Е.Н. *Поведение собаки. Пособие для собаководов*. Москва: ООО «АКВАРИУМ ПРИНТ», 2004. 160 с. [Mychko E.N. *Dog behavior. A manual for dog breeders*. Moscow: ООО «АКВАРИУМ ПРИНТ», 2004. 160 p.(in Russ.)]
7. Russell W.M.S, Burch R.L. *The principles of humane experimental technique*. London: Methuen and Co; 1959. 238 p.
8. Мазукина Е.В., Шекунова Е.В., Косман В.М., Уракова И.Н., Котельникова И.Г., Фонарев М.Ю., Ежова Е.А., Закалюкина Е.В., и др. Изучение эффективности и безопасности препарата Хондроитин сульфат в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(1):43-57

- [Mazukina E.V., Shekunova E.V., Kosman V.M., Ura-kova I.N., Kotelnikova I.G., Fonarev M.Yu., Ezhova E.A., Zakalyukina E.V., et al. Preclinical Study of the Efficacy and Safety of Chondroitin Sulfate. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2021;9(1):43–57 (in Russ.)). DOI: 10.30895/2312-7821-2021-9-1-43-57. EDN: JZGHVP.
9. Вавилова В.А., Шекунова Е.В., Джайн Е.А., Балабанын В.Ю., Озеров А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Экспериментальное изучение токсических свойств препарата VMU-2012-05 – оригинального нуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы ВИЧ-1. *Фармация и фармакология*. 2021;9(3):205–221 [Vavilova V.A., Shekunova E.V., Jain E.A., Balabanyan V.Yu., Ozerov A.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Experimental study of toxic properties of VMU-2012-05 drug – original non-nucleoside inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase. *Pharmacy and Pharmacology*. 2021;9(3):205–221 (in Russ.)). DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-205-221. EDN: ZLXJLH.
 10. Косман В.М., Карлина М.В., Мазукина Е.В., Глобенко А.А., Джайн Е.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Изучение безопасности и токсикокинетики препарата эзомепразол в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(2):176–190 [Kosman V.M., Karlina M.V., Mazukina E.V., Globenko A.A., Jain E.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical Evaluation of Esomeprazole Safety and Toxicokinetics. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023;11(2):176–190 (in Russ.)). DOI:10.30895/2312-7821-2023-11-2-342. EDN: ZLXJLH.
 11. Карлина М.В., Косман В.М., Макаров В.Г., Макарова М.Н., Морозов С.В., Гущина Е.Е., Журавская Н.В. Оценка фармакокинетического взаимодействия препарата фенозановой кислоты с препаратами вальпроевой кислоты и карбамазепина на собаках. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2022;10(4):420–433 [Karlina M.V., Kosman V.M., Makarov V.G., Makarova M.N., Morozov S.V., Gushchina E.E., Zhuravskaya N.V. Pharmacokinetic Interactions of Phenosanic Acid with Valproic Acid and Carbamazepine in Dogs. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2022;10(4):420–433 (in Russ.)). DOI: 10.30895/2312-7821-2022-10-4-420-433. EDN: WVBMMZ.
 12. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. 2010;99(3):306–314. DOI: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007.
 13. Луговик И.А., Шекунова Е.В. Оценка использования различных формул коррекции интервала QT (QTc) и референтные интервалы ЭКГ у наркотизированных собак породы бигль. Лабораторные животные для научных исследований. 2022;(2):32–43 [Lugovik I.A., Shekunova E.V. Evaluation of the use of various formula for correction of the QT interval (QTc) and ECG reference intervals in anesthetized beagle dogs. *Laboratory Animals for Science*. 2022;(2):32–43 (in Russ.)). DOI: 10.29296/2618723X-2022-02-04. EDN: IFUVQE.
 14. Косман В.М., Карлина М.В., Петрова Е.М., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Об оценке контаминации и анализе контрольных проб в исследованиях токсикокинетики. *Трансляционная медицина*. 2024;11(4):351–363 [Kosman V.M., Karlina M.V., Petrova E.M., Makarova M.N., Makarov V.G. On the assessment of contamination and analysis of control samples in toxicokinetics studies. *Translational Medicine*. 2024;11(4):351–363 (in Russ.)). DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-4-351-363. EDN: FWCXVC.
 15. Löscher W., Potschka H., Rieck S., Tipold A., Rundfeldt C. Anticonvulsant efficacy of the low-affinity partial benzodiazepine receptor agonist ELB 138 in a dog seizure model and in epileptic dogs with spontaneously recurrent seizures. *Epilepsia*. 2004;45(10):1228–1239. DOI: 10.1111/j.0013-9580.2004.21204.x.
 16. Косман В.М., Карлина М.В., Тютина К.В., Макаров В.Г., Макарова М.Н., Морозов С.В., Гущина Е.Е., Журавская Н.В. Доклиническое изучение фармакокинетических процессов ADME фенозановой кислоты в системах in vitro и in vivo. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022;20(3):297–308 [Kosman V.M., Karlina M.V., Tyutina K.V., Makarov V.G., Makarova M.N., Morozov S.V., Gushchina E.E., Zhuravskaya N.V. Preclinical study of pharmacokinetic ADME processes of phenosanic acid in vitro and in vivo. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022;20(3):297–308 (in Russ.)). DOI: 10.17816/RCF203297-308. EDN: MJQPAM.
 17. Prokopov A.A., Shukil' L.V., Berlyand A.S. Studying the bioavailability of feozan acid in various medicinal forms. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2006;40(1):1–4. DOI: 10.1007/s11094-006-0046-2. EDN: LJJUSTH.
 18. Kondratenko S.N., Starodubtsev A.K., Belyakova G.A. HPLC determination and pharmacokinetics of the new original domestic drug Dibufelon®. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2009;43(11):641–643. DOI: 10.1007/s11094-010-0370-4. EDN: LPOAXF.

Поступила в редакцию 18.12.2023
Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Косман В.М., Карлина М.В., Мазукина Е.В., Морозов С.В., Гущина Е.Е., Журавская Н.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Доклиническое изучение безопасности и токсикокинетики препарата фенозановой кислоты. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):4–21. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/01. EDN: CXVVIN.

PRECLINICAL EVALUATION OF PHENOSANIC ACID SAFETY AND TOXICOKINETICS

© Kosman V.M.¹, Karlina M.V.¹, Mazukina E.V.¹, Morozov S.V.², Gushchina E.E.², Zhuravskaya N.V.²,
Makarova M.N.¹, Makarov V.G.¹

¹ **Research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY” (RMC “HOME OF PHARMACY”)**

3/245, Zavodskaya Str., Kuzmolovsky urban-type settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region, 188663, Russian Federation

² **LLC “PIQ-PHARMA”**

25, bld.1, room I, fl. 1, Oruzheyniy line, Moscow, 125047, Russian Federation

Detailed post-marketing studies of phenosanoic acid, the active ingredient of the original domestic medicinal product Dibufelon®, approved for human medical use as an antiepileptic agent, are aimed at improving its clinical use.

Objective – analysis of toxic properties, immunotoxicity, toxicokinetics and elements of drug dependence development, assessment of possible carcinogenic properties of phenosanoic acid in sexually mature beagle dogs with repeated oral administration with a period of delayed observation.

Materials and methods. Phenosanoic acid was administered orally to dogs (control group of animals, 2 males and 2 females and 3 experimental groups of animals of 5 males and 5 females) for 270 days at doses of 24, 60 and 120 mg/kg (1; 2.5 and 5 higher therapeutic doses (VTD), respectively).

The general toxic properties, local irritating effect, effect on immunocompetent organs, elements of drug dependence development, possible carcinogenic properties, as well as basic pharmacokinetic parameters (C_{max}, T_{max}, AUC₀₋₂₄, MRT, T_{1/2}) were evaluated.

Results. The drug phenosanoic acid did not have a locally irritating, immunotoxic and carcinogenic effect, did not cause withdrawal syndrome. Neurological and behavioral abnormalities (tremors, isolated cases of slight depression of behavior and refusal of feed) were detected when the drug was administered mainly at medium and maximum doses. No dose of no apparent adverse effect (NOAEL) was established (less than 24 mg/kg). Toxicokinetic analysis showed no cumulation of the active ingredient after repeated oral administration.

Conclusion. the use of phenosanoic acid should take into account possible side effects (neurological and behavioral) that are associated with the direct pharmacological profile of the drug.

Keywords: phenosanoic acid; safety; toxicokinetics; preclinical studies.

Kosman Vera M. – Cand. Sci. (Pharm.), Head of analytical laboratory, RMC “HOME OF PHARMACY”, Kuzmolovsky urban-type settlement, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9690-1935 E-mail: kosman.vm@doclinika.ru (corresponding author).

Karlina Marina V. – Cand. Sci. (Biol.), Head of department of technology, kinetics and analysis of drugs, «RMC «HOME OF PHARMACY», Kuzmolovsky urban-type settlement, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-6292-8934. E-mail: karlina.mv@doclinika.ru

Mazukina Elizaveta V. – Head deputy of Department of Experimental pharmacology and toxicology, RMC «HOME OF PHARMACY», Kuzmolovsky urban-type settlement, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1448-921X. E-mail: mazukina.ev@doclinika.ru

Morozov Sergei V. – Cand. Sci. (Med), development director, LLC “PIQ-PHARMA”, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-8514-792X. E-mail: morozov_s@pikfarma.ru

Gushchina Eugenia E. – medical information specialist, LLC “PIQ-PHARMA”, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5138-5519. E-mail: gushchina_e@pikfarma.ru

Zhuravskaya Natalia V. – Head of medical department, LLC “PIQ-PHARMA”, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9586-4298. E-mail: zhuravskaya@pikfarma.ru

Makarova Marina N. – Dr. Sci. (Med.), Director, «RMC «HOME OF PHARMACY», Kuzmolovsky urban-type settlement, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3176-6386. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

Makarov Valery G. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Scientific supervisor, «RMC «HOME OF PHARMACY», Kuzmolovsky urban-type settlement, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2447-7888. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru

COMPLIANCE WITH PRICIPLES OF ETHICS

All the experiments were performed according to the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The study was approved by the Bioethics Committee of the research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY” (Approval No. 1.41/21 of 13.08.2021).

CONFLICT OF INTEREST

There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by LLC “PIQ-PHARMA”, Russia. However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

SOURCE OF FINANCING

The study received no government budget funding; the work was supported by LLC “PIQ-PHARMA”, Russia.

AUTHORS CONTRIBUTION

Kosman V.M. – HPLC-UV analysis, calculation and compression of pharmacokinetic parameters, drafted the manuscript. Karlina M.V. – discussed the results of the pharmacokinetic study. Mazukina E.V. – coordinated research planning and activities; collected, analysed, and interpreted the data; discussed the results of toxicity tests. Morozov S.V. – critically analyzed the study design and manuscript text. Gushchina EE. – approved the final version of the manuscript for publication. Zhuravskaya NV. – literature data and regulation documents analysis. Makarova Marina N. critically revised the manuscript. Makarov V.G. – critically revised the manuscript and approved the final version for publication.

Received 18.12.2023

Accepted 25.12.2024

For citation: Kosman V.M., Karlina M.V., Mazukina E.V., Morozov S.V., Gushchina E.E., Zhuravskaya N.V., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical evaluation of phenosanoic acid safety and toxicokinetics. *Humans and their health*. 2024;27(4):4–21. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/01. EDN: CXVVIN.

ЭФФЕКТЫ ПЕПТИДА THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СТЕНКИ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

© Кривошлыкова М.С.¹, Бобынцев И.И.¹, Мишина Е.С.¹, Ворвуль А.О.¹, Медведева О.А.¹, Андреева Л.А.², Мясоедов Н.Ф.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

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

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

(НИЦ «Курчатовский институт»)

Россия, 123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, д. 2

Цель – гистологическое исследование структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки у крыс после введения пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro при хроническом иммобилизационном стрессе.

Материал и методы. Эксперименты выполняли на 45 самцах крыс Вистар. Все животные были распределены на 5 групп по 9 особей в каждой. В группе 1 животные без стресса получали 0,9% раствор NaCl; в группе 2 животных стрессировали и вводили раствор NaCl; в группах 3, 4 и 5 стрессированным животным вводили тафтцин-ППП в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг соответственно. Животных подвергали стрессу в течение 28 дней, пептид вводили с 15-го по 28-й день эксперимента. Проводили гистологическое исследование толстой кишки крыс, определяли глубину кишечных крипт и количество бокаловидных клеток в них. Подсчитывалось количество гранулоцитов, плазматических клеток, лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки.

Результаты. Хроническое стрессирование экспериментальных животных (на протяжении 28 дней) вызывало структурные сдвиги и изменения клеточного состава в стенке ободочной кишки с развитием в ней признаков хронического воспаления. Применение пептида тафтцин-ППП с 15-го по 28-й день эксперимента способствовало значительному снижению выраженности вызванных стрессом изменений исследованных показателей с наибольшим эффектом в дозе 750 мкг/кг.

Заключение. Изменения структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки в условиях хронического иммобилизационного стресса у крыс корректируются введением пептида тафтцин-ППП в дозах 250 и 750 мкг/кг.

Ключевые слова: пептид Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro; крысы Вистар; иммобилизационный стресс; ободочная кишка; воспаление.

Кривошлыкова Марина Сергеевна – ассистент кафедры фармакологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

Бобынцев Игорь Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии, директор НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Мишина Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, зав. лабораторией морфологии и клеточных технологий НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Ворвуль Антон Олегович – канд. мед. наук, ст. преподаватель кафедры патофизиологии, ст. науч. сотрудник НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Медведева Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, зав. лабораторией микробиологии и магнитобиологии НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск, Россия. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Андреева Людмила Александровна – зам. зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Мясоедов Николай Федорович – д-р хим. наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

Известно, что длительное стрессорное воздействие приводит к изменению взаимоотношений в оси «микробиота-кишечник-мозг» [1]. Одним из механизмов данных сдвигов может являться повышение проницаемости стенки кишки и развитие в ней воспалительной реакции с последующим нарушением адгезивных свойств слизистой оболочки и качественным и количественным сдвигами в составе микробиоты на ее поверхности. Наряду с этим воспаление приводит к увеличению продукции провоспалительных цитокинов, которые, как известно, оказывают влияние на центральную нервную систему (ЦНС) [2].

В связи с этим представляется целесообразным поиск новых эффективных препаратов, обладающих стресс-лимитирующим действием. К их числу можно отнести пептид тафтцин-ППП (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), являющийся действующим веществом анксиолитического препарата Селанк® (АО ПЕПТОГЕН, Россия) [3]. Ранее нами было показано, что тафтцин-ППП предотвращал развитие стрессиндуцированных изменений в стенке ободочной кишки при 14-дневном стрессе [4]. Однако для развития стрессорной реакции в организме характерна выраженная стадийность. С учетом данного обстоятельства вполне обоснованным являлось

изучение эффектов данного пептида на более поздних сроках хронического стресса.

Целью исследования являлось гистологическое исследование структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки у крыс после введения пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro при хроническом иммобилизационном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн эксперимента показан на рисунке 1. Исследование выполнено на 45 крысах-самцах Вистар весом 250-300 г, разделенных на 5 групп (n=9): 1 – нестрессированные; 2 – стрессированные, 3, 4 и 5 – стрессированные, которым внутривенно вводили разведенный в 0,9% растворе NaCl тафтцин-ППП соответственно в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг в объеме из расчета 1 мл/кг массы тела. Животным 1 и 2 групп вводили изотонический раствор NaCl в эквивалентных объемах.

Исследование одобрено Региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (протокол № 8 от 06.12.2019 г.).

Стрессорное воздействие проводили иммобилизацией животных в течение 2 ч. на протяжении 28 дней. Иммобилизацию проводили путем помещения крыс в тесные пластиковые боксы в горизонтальном положении. Тафтцин-ППП вводили за 15 мин. до начала каждого стрессорного воздействия с 15-го по 28-й дни эксперимента, за 15 минут до иммобилизации крысам вводили пептид. Из эксперимента животных выводили обескровливанием забором крови из правого желудочка сердца крови под легким эфирным наркозом. Для проведения гистологического исследования брали фрагмент ободочной кишки и изготавливали гистологические срезы с последующей окраской их гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование проводили на 100 клеток в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$, что соответствовало площади 502 мкм^2 (для достоверной идентификации кардио-цитологических признаков) по 5 срезам. Измерение глубины крипт проводили

при помощи программы ImageJ v.1.53i (National Institutes of Health, США, <https://imagej.nih.gov/>).

Подтверждением развития стресса в использованной модели у крыс являлось определение изменений концентрации кортикостерона в сыворотке крови с использованием иммуноферментной тест-системы Corticosterone ELISA kit, ADI-900-097 (Enzo Life Sciences; США) на анализаторе Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific; США).

Статистическую обработку полученных данных проводили в среде R. Так как гипотеза о нормальности распределения (по критерию Шапиро-Уилка) была отклонена, для сравнения двух групп применяли U-критерий Манна-Уитни, четырех групп – критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей (Me [1Q; 3Q]). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование стенки ободочной кишки нестрессированных животных патоморфологических изменений не выявило (рис. 2).

При моделировании стресса на фоне повышения концентрации кортикостерона (в 5 раз, $p < 0,05$) в стенке кишки определялись признаки хронического воспаления с изменением архитектоники слизистой оболочки (рис. 3). Наблюдались очаги язвенных дефектов слизистой вследствие некроза эпителия, определялись крипт-абсцессы и снижение плотности бокаловидных клеток (на 16%, $p < 0,01$) на стандартную площадь (рис. 4). При этом форма крипт была булавовидной на фоне значительного снижения их глубины (на 29%, $p < 0,01$). Вышеуказанные структурные изменения в слизистой развивались в сочетании с изменением клеточного состава в подслизистой основе, который был преимущественно представлен плазмочитами, тучными клетками и лимфоцитами. Их количество увеличилось в 4 ($p < 0,001$), 3,6 ($p < 0,001$) и 1,5 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению со 2-й группой.

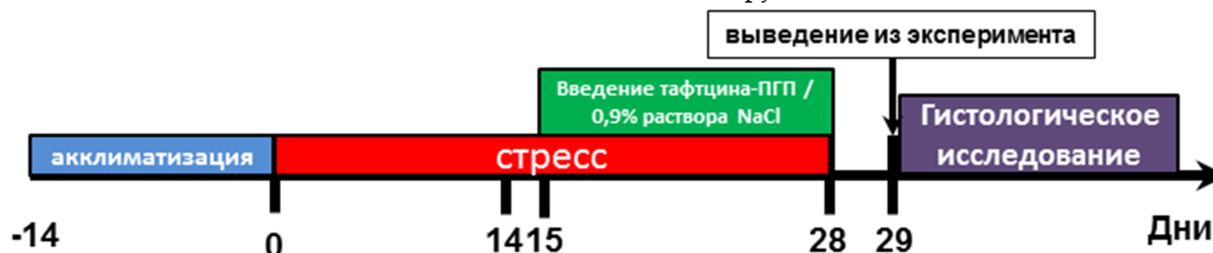


Рис. 1. Дизайн эксперимента.

Fig. 1. Experimental design.

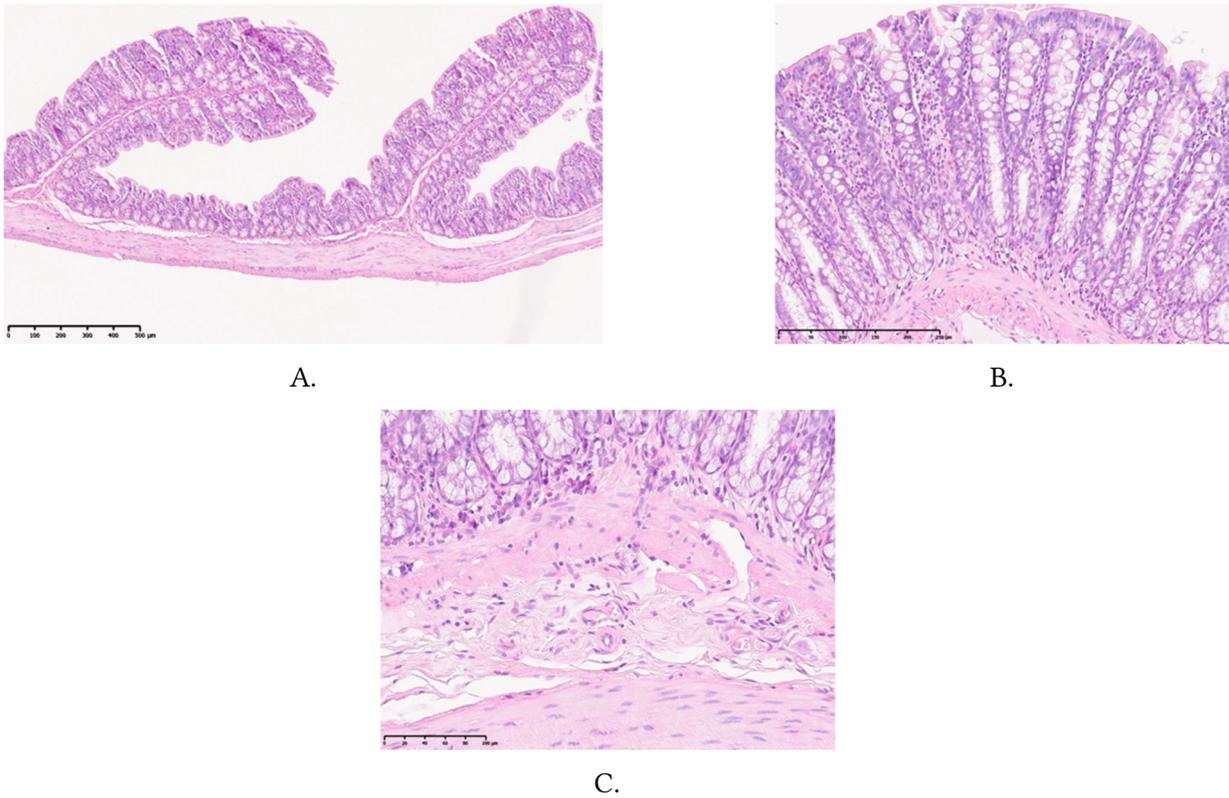


Рис. 2. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у нестрессированной крысы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а)×40; б) ×100; с) ×400.

Fig. 2. Microphotographs of a section of the colonic wall in an unstressed rat. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) ×40; b) ×100; c) ×400.

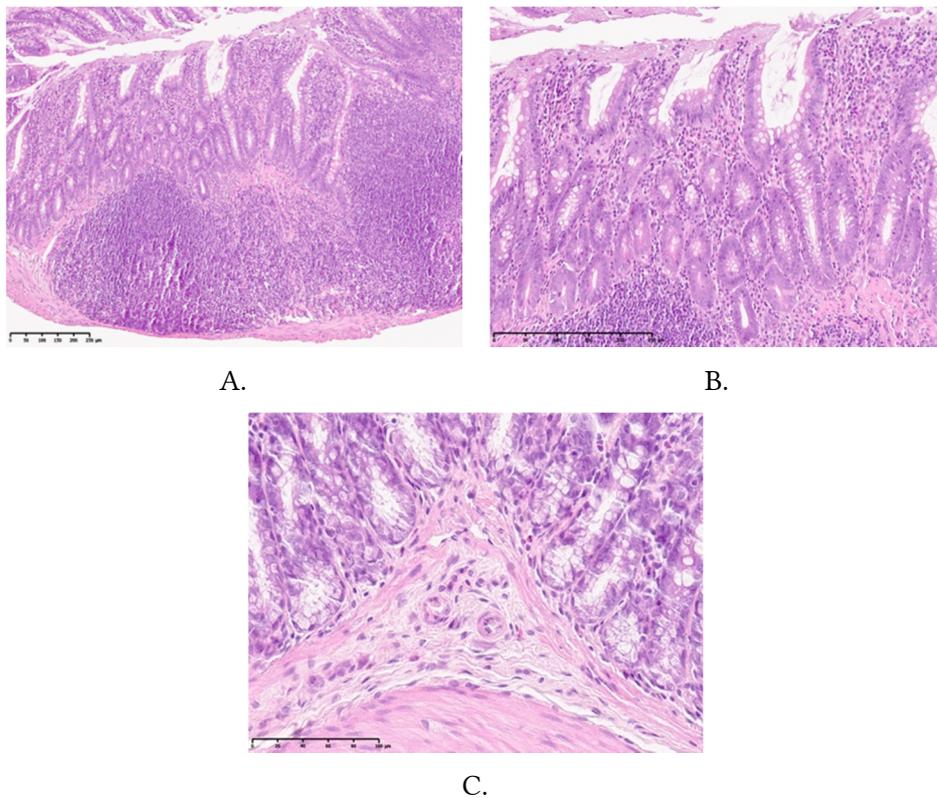


Рис. 3. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы без последующего введения пептида тафтзин-ППП. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а)×40; б) ×100; с) ×400.

Fig. 3. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat without subsequent administration of taftzin-PGP peptide. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) ×40; b) ×100; c) ×400.

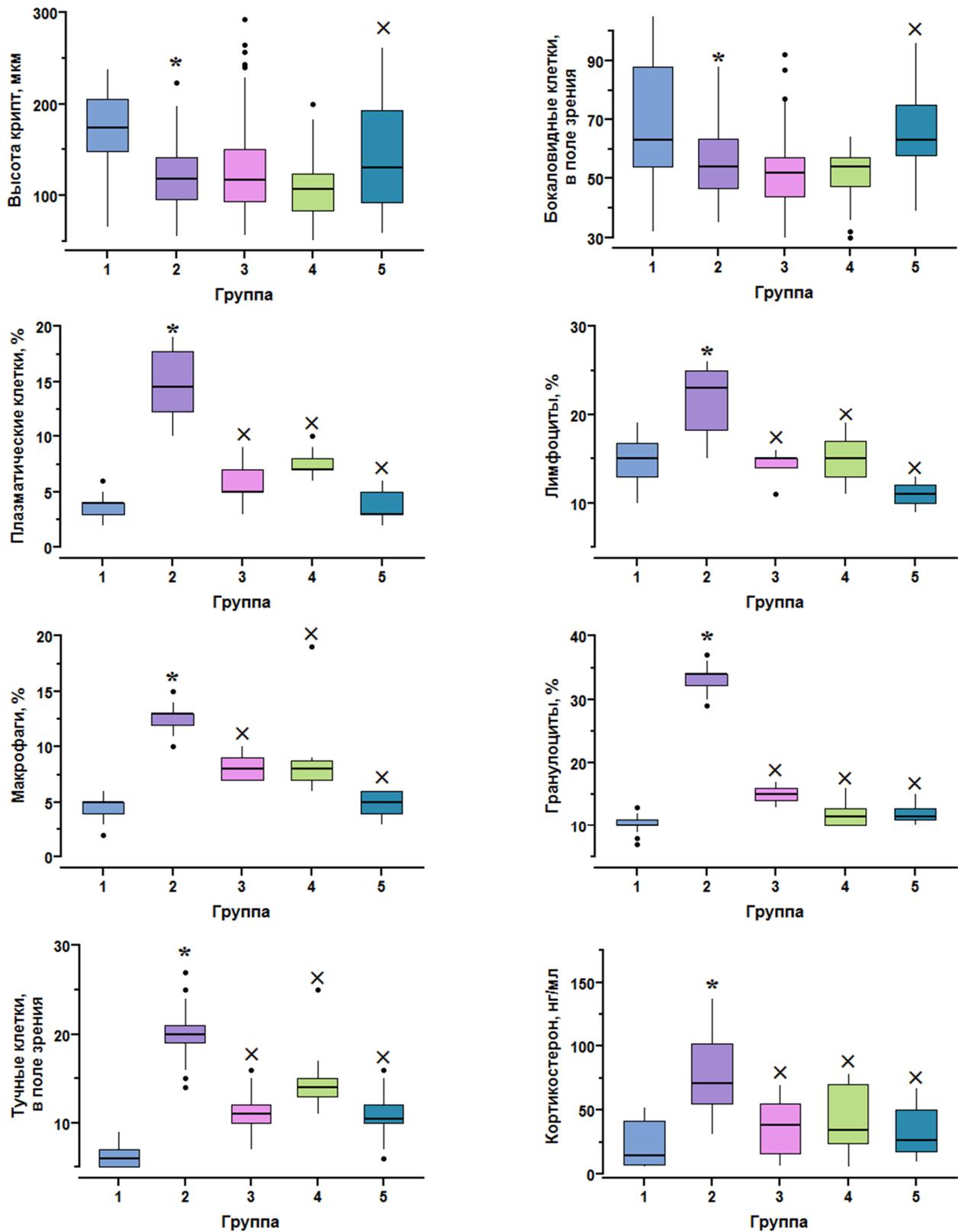


Рис. 4. Морфометрические показатели ободочной кишки и концентрация кортикостерона при применении тафтзин-ППП в условиях иммобилизационного стресса.

Figure 4. Morphometric indices of colon and corticosterone concentration during application of taftzin-PGP under immobilisation stress conditions.

Примечание: * – $p < 0.05$ в сравнении с 1-й группой «Контроль» (U-критерий Манна-Уитни); × – $p < 0.05$ в сравнении со 2-й группой (критерий Краскела-Уоллиса с post hoc тестом Данна).

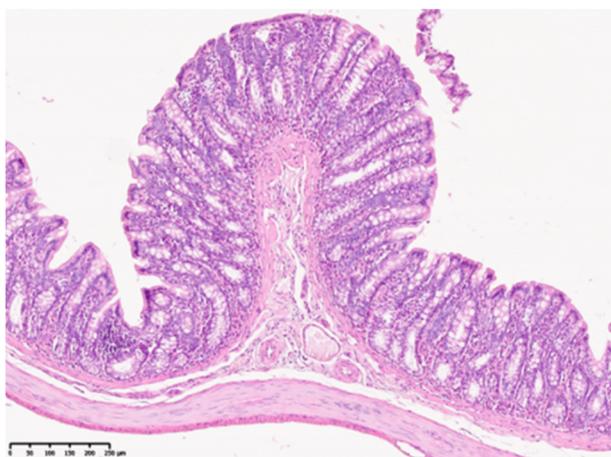
Note: * – $p < 0.05$ compared to group 1 'Control' (Mann-Whitney U-test); × – $p < 0.05$ compared to group 2 (Kruskal-Wallis test with Dunn's post hoc test).

Введение пептида стрессированным крысам в дозе 80 мкг/кг сопровождалось незначительными воспалительными изменениями стенки ободочной кишки по сравнению с группой контроля (рис. 5). При этом как глубина крипт, так и число бокаловидных клеток не отличались от животных 2-й группы. В слизистой оболочке определялась умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация, не распространяющаяся на собственную пластинку, в которой визуализируются полнокровные кровеносные сосуды мелкого калибра. При этом происходило снижение уровня кортикостерона (в 1,8 раза, $p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой.

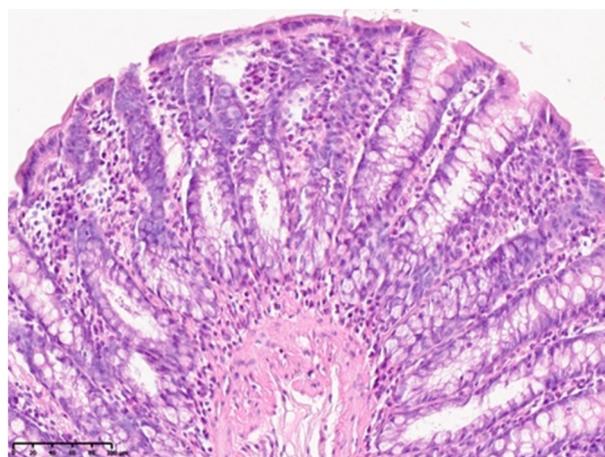
У животных четвертой группы (стресс + тафтцин-ПГП 250 мкг/кг) стенка кишки без патоморфологических изменений (рис. 6) на фоне уменьшения концентрации кортикостерона на 46% ($p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой. Глубина крипт и число бокаловидных клеток зна-

чимо не отличались от животных 2-й группы. Отмечалась умеренно выраженная инфильтрация полиморфноядерными клетками. В собственной пластинке слизистой большое количество тучных клеток.

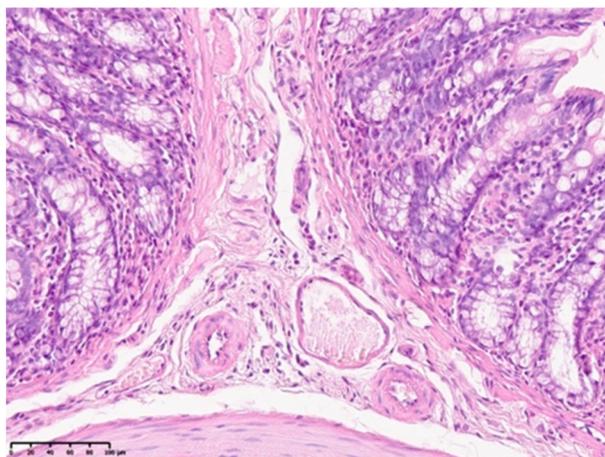
При применении пептида тафтцин-ПГП в максимальной использованной дозе 750 мкг/кг показано увеличение глубины крипт (на 15%, $p < 0,01$) и числа бокаловидных клеток (на 16%, $p < 0,01$) на фоне снижения концентрации кортикостерона (в 2,7 раза, $p < 0,01$) относительно животных 2-й группы (рис. 7). В собственной пластинке слизистой на фоне отсутствия признаков нарушения микроциркуляции установлено снижение числа плазмоцитов (в 2 раза, $p < 0,01$) и тучных клеток (в 1,9 раза, $p < 0,01$) относительно животных 2-й группы. Также отмечалось снижение концентрации кортикостерона в сыворотке крови (в 2,7 раза, $p < 0,05$) по сравнению со 2-й группой.



A.



B.



C.

Рис. 5. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ПГП в дозе 80 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

Fig. 5. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) $\times 40$; b) $\times 100$; c) $\times 400$.

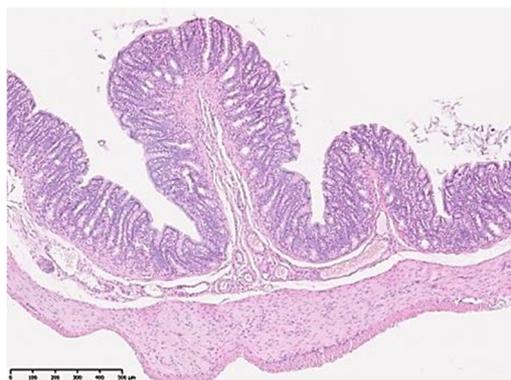
Установленные изменения могли являться следствием повышения продукции кортикотропин-рилизинг фактора (КРФ), приводящего к повышению проницаемости слизистой кишечника за счет разрушения плотных контактов [6], что, в свою очередь, способствует транслокации микроорганизмов в подслизистую основу, где развивается воспалительная реакция [7]. Также возможными механизмами установленных эффектов могли быть стресс-индуцированные нарушения гемостаза и активация свободно-радикального окисления в стенке ободочной кишки [8-11].

Влияние пептида тафтцин-ППП на исследованные гистологические показатели ободочной кишки может реализовываться как за счет его местного, так и общего (нейротропного) действия. Известно, что тафтцин-ППП и продукты его протеолиза обладают антикоагулянтным и антиагрегантным действием [12], что может способствовать улучшению реологических свойств крови и микроциркуляции. Кроме того, тафтцин-ППП влияет на баланс Th1/Th2/Treg, уровень цитокинов [13], снижает выраженность

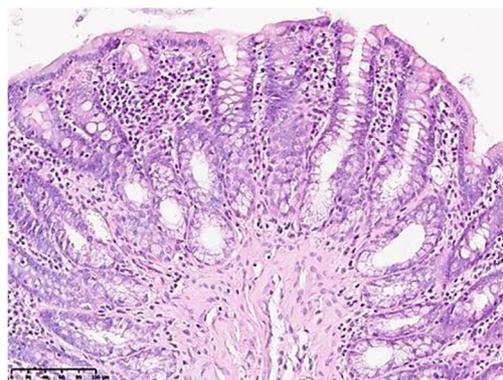
свободно-радикального окисления [14], а также снижает экспрессию гена *Map2k1*, кодирующего киназу MAPK-сигнального пути [15].

Центральные эффекты тафтцина-ППП реализуются за счет его способности проникать через гематоэнцефалический барьер, взаимодействовать со структурами ЦНС, воздействовать на системы нейротрансмиттеров [3, 16, 17], увеличивать экспрессию гена и продукцию мозгового нейротрофического фактора [17], что могло способствовать уменьшению продукции КРФ, снижению проницаемости слизистой оболочки и выраженности воспалительной реакции.

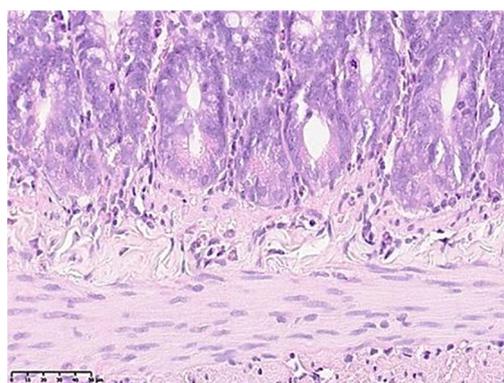
Таким образом, 28-дневное стрессирование экспериментальных животных приводило к выраженным морфофункциональным изменениям стенки ободочной кишки с развитием в ней признаков хронического воспаления. Изменения структуры и клеточного состава стенки ободочной кишки в условиях хронического иммобилизационного стресса у крыс корригируются введением пептида тафтцин-ППП в дозах 250 и 750 мкг/кг.



А.



В.



С.

Рис. 6. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ППП в дозе 250 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

Fig. 6. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) $\times 40$; б) $\times 100$; в) $\times 400$.

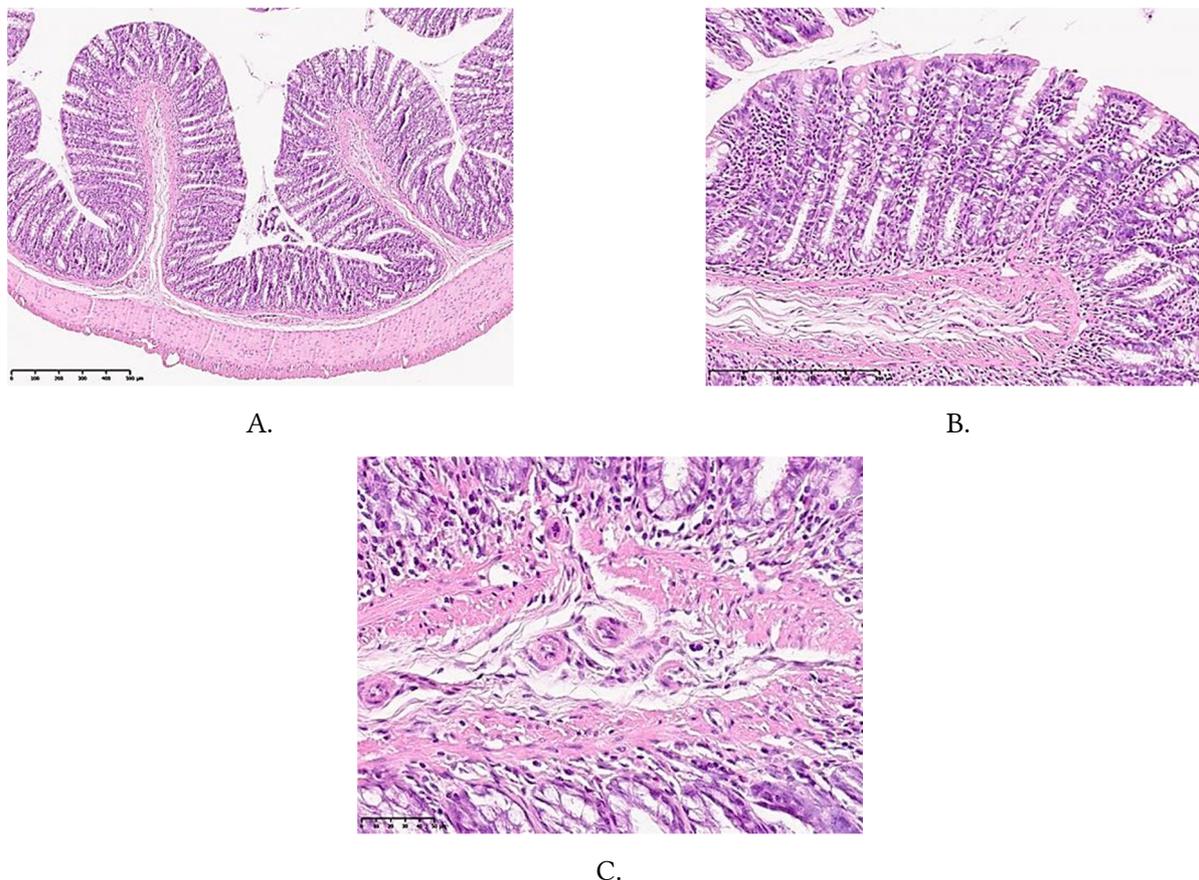


Рис. 7. Микрофотографии участка стенки ободочной кишки у стрессированной крысы с последующим введением пептида тафтцин-ПП в дозе 750 мкг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: а)×40; б) ×100;с) ×400.

Fig. 7. Microphotographs of a section of the colonic wall in a stressed rat with subsequent administration of taftzin-PGP peptide at a dose of 750 µg/kg. Haematoxylin and eosin staining. Magnification: a) ×40; b) ×100; c) ×400.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено Этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол № 8 от 06.12.2019 г.). Все эксперименты соответствовали принципам ARRIVE и были проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Кривошлыкова М.С. – анализ и интерпретация данных. Бобынцев И.И. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Мишина Е.С. – анализ и интерпретация данных; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи.

Ворвуль А.О. – анализ и интерпретация данных. Медведева О.А. – разработка концепции и дизайна; проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи. Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. – разработка концепции и дизайна.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chato M., Li Y., Ma Z., Coote J., Du J., Chen X. Involvement of Corticotropin-Releasing Factor and Receptors in Immune Cells in Irritable Bowel Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:21. DOI: 10.3389/fendo.2018.00021.
2. Dinan T.G., Cryan J.F. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2017;46(1):77-89. DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.007.
3. Westfall S., Caracci F., Estill M., Frolinger T., Shen L., Pasinetti G.M. Chronic Stress-Induced Depression and Anxiety Priming Modulated by Gut-Brain-Axis Immunity. *Front Immunol*. 2021;12:670500. DOI: 10.3389/fimmu.2021.670500.
4. Géa L.P., Colombo R., Rosa E.D.D., Antqueviezc B., Aguiar É.Z., Hizo G.H., Schmidt G.B., Oliveira L.F., Stein D.J., Rosa A.R. Anhedonic-like behavior correlates with IFN γ serum levels in a two-hit model of depression. *Behav Brain Res*. 2019; 373: 112076. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112076.

5. Voorhees J.L., Tarr A.J., Wohleb E.S., Godbout J.P., Mo X., Sheridan J.F., Eubank T.D., Marsh C.B. Prolonged restraint stress increases IL-6, reduces IL-10, and causes persistent depressive-like behavior that is reversed by recombinant IL-10. *PLoS One*. 2013;8(3):e58488. DOI: 10.1371/journal.pone.0058488.
6. Koroleva S.V., Mjasoedov N.F. Physiological effects of Selank and its fragments. *Biol Bull.* 2019;46(4): 407–414. DOI: 10.1134/S1062359019040071
7. Mukhina A.Y., Mishina E.S., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Morphological Changes in the Large Intestine of Rats Subjected to Chronic Restraint Stress and Treated with Selank. *Bull Exp Biol Med.* 2020;169(2):281–285. DOI: 10.1007/s10517-020-04868-9.
8. Автандилов Г.Г. *Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии*. Москва: Медицина, 1984:285 с. [Avtandilov G.G. *Problems of pathogenesis and pathoanatomic diagnosis of diseases in aspects of morphometry*. Moscow: Meditsina, 1984:285 p. (in Russ.)]
9. Overman E.L., Rivier J.E., Moeser A.J. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF- α . *PLoS One*. 2012; 7(6): e39935. DOI: 10.1371/journal.pone.0039935.
10. Ma Q., Li X., Yan Z., Jiao H., Wang T., Hou Y., Jiang Y., Liu Y., Chen J. Xiaoyaosan Ameliorates Chronic Immobilization Stress-Induced Depression-Like Behaviors and Anorexia in Rats: The Role of the Nesfatin-1-Oxytocin-Proopiomelanocortin Neural Pathway in the Hypothalamus. *Front Psychiatry*. 2019;10:910. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00910.
11. Di Vincenzo F., Del Gaudio A., Petito V., Lopetuso L.R., Scaldaferrri F. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med.* 2024;19(2):275–293. DOI: 10.1007/s11739-023-03374-w.
12. Spiezia L., Tormene D., Pesavento R., Salmaso L., Simioni P., Prandoni P. Thrombophilia as a predictor of persistent residual vein thrombosis. *Haematologica*. 2008; 93(3): 479–480. DOI: 10.3324/haematol.12205.
13. Yisireyili M., Alimujiang A., Aili A., Li Y., Yisireyili S., Abudureyimu K. Chronic Restraint Stress Induces Gastric Mucosal Inflammation with Enhanced Oxidative Stress in a Murine Model. *Psychol Res Behav Manag.* 2020;13:383–393. DOI: 10.2147/PRBM.S250945.
14. Israeli E., Hershcovici T., Berenshtein E., Zannineli G., Wengrower D., Weiss O., Chevion M., Goldin E. The effect of restraint stress on the normal colon and on intestinal inflammation in a model of experimental colitis. *Dig Dis Sci.* 2008;53(1):88–94. DOI: 10.1007/s10620-007-9827-z.
15. Рогозинская Э.Я., Ляпина Л.А. Влияние аргининсодержащих пептидов на антикоагулянтную и фибринолитическую активность плазмы крови крыс в условиях *in vitro*. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2019;82(12):23–26 [Rogozinskaya E.Ya., Lyapina L.A. Arginin-containing peptides influence the anticoagulant and fibrinolytic activity of blood plasma *in vitro*. *Experimental and clinical pharmacology*. 2019;82(12):23–26 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-12-23-26. EDN: BVOZFF
16. Lyapina L.A., Pastorova V.E., Obergan T.Y., Samonina G.E., Ashmarin I.P., Myasoedov N.F. Comparison of anticoagulant effects of regulatory proline-containing oligopeptides. Specificity of glyprolines, semax, and selank and potential for their practical application. *Biol Bull.* 2006;33(2):153–161. DOI: 10.1134/S1062359006020099
17. Учакина О.Н., Учакин П.Н., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А., Щербенко В.Э., Мезенцева М.В., Габеева М.В., Соколов О.Ю. и др. Иммуномодулирующее действие селанка у больных с тревожно-астеническими расстройствами. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2008;108(5):71–75 [Uchakina O.N., Uchakin P.N., Miasoedov N.F., Andreeva L.A., Scherbenko V.E., Mezentseva M.V., Gabaeva M.V., Sokolov O.Yu., et al. Immunomodulatory effects of selank in patients with anxiety-asthenic disorders. *S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2008;108(5):71–75 (in Russ.)]
18. Флейшман М.Ю., Толстенок И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(2):46–51 [Fleyshman M.Yu., Tolstenok I.V., Innokent'ev A.A. Effects of peptide Selank on oxidative stress in the brain and thin intestine of white rats on experimental model of traumatic brain injury. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal*. 2019;39(2):46–51 (in Russ.)]. DOI: 10.15372/SSMJ20190205. EDN: IJPYOW.
19. Kolomin T.A., Agapova T.Y., Agniullin Y.V., Shram S.I., Shadrina M.I., Slominskii P.A., Limborskaya S.A., Myasoedov N.F. Changes in the Transcription Profile of the Hippocampus in Response to Administration of the Tuftsin Analog Selank. *Neurosci Behav Physiol.* 2014;44:849–855. DOI: 10.1007/s11055-014-9992-4.
20. V'yunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. Peptide regulation of specific ligand-receptor interactions of GABA with the plasma membranes of nerve cells. *Neurochem J.* 2014;8:259–64. DOI: 10.1134/S1819712414040114
21. Inozemtseva L.S., Karpenko E.A., Dolotov O.V., Levitskaya N.G., Kamensky A.A., Andreeva L.A., Grivennikov I.A. Intranasal administration of the peptide Selank regulates BDNF expression in the rat hippocampus *in vivo*. *Dokl Biol Sci.* 2008;421:241–243. DOI: 10.1134/s0012496608040066.

Поступила в редакцию 08.05.2024
Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Кривошлыкова М.С., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Ворвуль А.О., Медведова О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Эффекты пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние стенки ободочной кишки при длительном иммобилизационном стрессе. *Человек и его здоровье.* 2024;27(4):22–30. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/02. EDN: EUNYMK.

EFFECTS OF THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO PEPTIDE ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE COLONIC WALL UNDER PROLONGED RESTRAINT STRESS

© Krivoshlykova M.S.¹, Bobyntsev I.I.¹, Mishina E.S.¹, Vorvul A.O.¹, Medvedeva O.A.¹, Andreeva L.A.², Myasoedov N.F.²

¹ Kursk State Medical University (KSMU)

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

² National Research Centr «Kurchatov Institute» (NRC «Kurchatov Institute»)

2, Academician Kurchatov Sq., Moscow, 123182, Russian Federation

Objective – histological examination of the structure and cellular composition of the colon wall in rats after administration of the peptide Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro under chronic immobilization stress.

Material and methods. The experiments were carried out on 45 male Wistar rats. All animals were divided into 5 groups of 9 animals each. In group 1 group, non-stressed animals received 0.9% NaCl solution; in group 2, animals were stressed and NaCl solution was administered; in groups 3, 4 and 5, stressed animals were administered tuftsin-PGP at doses of 80, 250 and 750 µg/kg, respectively. The animals were stressed for 28 consecutive days, the peptide was administered from the 15th to 28th experimental day. Histological examination of rat colon was performed, the depth of intestinal crypts and the number of goblet cells in them were determined. The number of granulocytes, plasma cells, lymphocytes, macrophages and mast cells in the lamina propria of the mucous layer was counted.

Results. Chronic stress in experimental animals (for 28 days) caused structural shifts and changes in the cellular composition of the colon wall with the development of signs of chronic inflammation in it. Application of the peptide tuftsin-PGP from day 15 to day 28 of the experiment contributed to a significant reduction in the severity of stress-induced changes in the parameters studied, with the greatest effect at a dose of 750 µg/kg.

Conclusion. Administration of tuftsin-PGP peptide at doses of 250 and 750 µg/kg on the background of stressing promotes the correction of inflammatory stress-induced morphofunctional changes in the colon wall.

Keywords: Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro peptide; Wistar rats; restraint stress; colon; inflammation.

Krivoshlykova Marina S. – Assistant Lecturer at the Department of Pharmacology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (corresponding author)

Bobyntsev Igor I. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Director of the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Mishina Ekaterina S. – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Histology, Cytology, Embryology, Head of the Laboratory of Morphology and cellular technologies, Research Institute of Experimental medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3835-0594. E-mail: mishinaes@kursksmu.net

Vorvul Anton O. – Cand. Sci. (Med.), Senior Lecturer at the Department of Pathophysiology, Senior Researcher at the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Medvedeva Olga A. – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology, Head of the Laboratory of Microbiology and magnitobiology of the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Andreeva Lyudmila A. – Deputy Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology of Peptides, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Myasoedov Nikolay F. – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Pharmacology of Peptides, NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the ethical committee of the Kursk State Medical University (protocol No. 8 of 06.12.2019). All experiments conformed to the ARRIVE principles and were conducted in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes.

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.

AUTHORS CONTRIBUTION

Krivoshlykova M.S. – data analysis and interpretation. Bobyntsev I.I. – concept and design development; data analysis and interpretation; justification of the manuscript or verification of critical intellectual content; final approval for publication of the manuscript. Mishina E.S. – data analysis and interpretation; verification of critical intellectual content of the manuscript. Vorvul A.O. – data analysis and interpretation. Medvedeva O.A. – concept and design development; verification of critical intellectual content of the manuscript. Andreeva L.A., Myasoedov N.F. – concept and design development.

Received 08.05.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Krivoshlykova M.S., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Vorvul A.O., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of the colonic wall under prolonged restraint stress. *Humans and their health*. 2024;27(4):22–30. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/02. END: EUNYMK.

УРОВНИ ВИТАМИНА D И МИОСТАТИНА У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА СО СТРЕССОВЫМ НЕДЕРЖАНИЕМ МОЧИ

© Майлян Э.А.¹, Геворкян Р.Р.², Резниченко Н.А.², Ткаченко К.Е.¹

¹ **Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького (ДонГМУ)**

Россия, 283003, Донецкая Народная Республика, г. Донецк, пр. Ильича, д. 16

² **Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (КФУ им. В.И. Вернадского)**

Россия, 295007, Республика Крым, г. Симферополь, пр. Академика Вернадского, д. 4

Цель – оценить сывороточные уровни витамина D и миостатина у женщин в постклимактерическом периоде и их связи с возрастом, длительностью постменопаузы (ДПМП) и тяжестью клинических проявлений стрессового недержания мочи (СНМ).

Материалы и методы. Обследовано 150 женщин в постменопаузе, страдающих СНМ. Пациентам был предложен дополнительный опросник для оценки недержания мочи The Overactive Bladder Questionnaire. Исследованы сывороточные концентрации витамина D и миостатина.

Результаты. Субъективная частота симптомов СНМ у женщин, находящихся в постменопаузальном периоде, нарастает с возрастом и ДПМП ($p=0,001$ – $p=0,045$). Сывороточные концентрации витамина D снижаются с возрастом ($p=0,004$) и по мере увеличения ДПМП ($p=0,023$), а уровни миостатина с возрастом нарастают ($p=0,038$). Снижение качества жизни больных с СНМ сопряжено с увеличением возраста и ДПМП ($p<0,0001$), снижением сывороточных концентраций витамина D ($p<0,0001$) и повышением уровней миостатина ($p=0,0004$).

Заключение. Полученные данные позволяют рассматривать показатели возраста и ДПМП, а также сывороточные концентрации витамина D и миостатина в качестве персонализированных предикторов ухудшения качества жизни женщин с СНМ в постменопаузальном периоде.

Ключевые слова: стрессовое недержание мочи; постменопауза; возраст; витамин D; миостатин.

Майлян Эдуард Апетнакович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и аллергологии, ДонГМУ, г. Донецк. ORCID iD: 0000-0003-2845-7750. E-mail: eduardmailyan095@gmail.com (автор, ответственный за переписку)

Геворкян Рудольф Рафаельевич – ассистент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID iD: 0000-0001-6281-4104. E-mail: rudolf.gevorkyan@bk.ru

Резниченко Наталья Анатольевна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID iD: 0000-0003-3396-1046. E-mail: professorreznichenko@mail.ru

Ткаченко Ксения Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и аллергологии, ДонГМУ, г. Донецк. ORCID iD: 0000-0003-0816-5339. E-mail: t.xeniya@mail.ru

Стрессовое недержание мочи (СНМ) – это непроизвольное выделение незначительного количества мочи при физической нагрузке, чихании или кашле, которое возникает, если давление в мочевом пузыре превышает давление внутри мочеиспускательного канала. В настоящее время данная патология затрагивает около одной трети женщин в возрасте 40-59 лет во всем мире [1]. Согласно данным международных эпидемиологических исследований в основном СНМ наблюдается у женщин в репродуктивной возрастной группе и в постменопаузе, достигая пика на пятом десятилетии. Так, около 25% женщин пременопаузального возраста и 40% женщин в постменопаузе страдают СНМ [2].

Инконтиненция является не только медицинской, но и значимой социальной проблемой, поскольку связана со снижением качества жизни больных, а в наиболее тяжелых случаях может приводить к утрате трудоспособности и даже социальной изоляции пациента [1]. Несмотря на широкую распространенность заболевания, обращаемость за медицинской помощью в нашей стране низкая – не более 10% женщин с симптомами недержания мочи самостоятельно

но обращаются к специалисту [3]. Данная ситуация требует особого внимания со стороны медицинских работников. Активное выявление пациентов, страдающих СНМ, в свою очередь требует осведомленности медицинского персонала о возможных факторах риска и предикторах тяжелого течения заболевания.

В числе предрасполагающих факторов развития СНМ большое значение отводят возрасту женщин, а также наступлению климактерического периода [3, 4]. Следует, однако, отметить, что, несмотря на общность патогенетических изменений, протекающих по мере естественных процессов старения организма, развитие СНМ происходит не у всех женщин и носит скорее индивидуальный характер. Кроме того, у разных женщин значительно варьирует тяжесть клинической симптоматики СНМ и влияние ее на качество жизни. В связи с этим актуальным и перспективным представляется поиск диагностических биомаркеров, которые могли бы использоваться как персонализированные предикторы выраженности клинических проявлений СНМ и качества жизни больных. В настоящем исследовании в качестве потенциальных мар-

керных молекул были изучены витамин D и миостатин.

Цель работы – оценить сывороточные уровни витамина D и миостатина у женщин в постклимактерическом периоде и их связи с возрастом, длительностью постменопаузы и тяжестью клинических проявлений стрессового недержания мочи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования – проспективное, кросс-секционное. Группу исследования составили 150 женщин с впервые выявленным СНМ средней степени тяжести. Критерии включения в исследование: женский пол, постменопауза (стойкое отсутствие менструаций сроком минимум 12 месяцев), стрессовое недержание мочи, письменное добровольное информированное согласие пациента. Критерии исключения: наличие других форм недержания мочи (ургентное, смешанное и др.), инфекций мочевыводящих путей, сопутствующей патологии нижних мочевыводящих путей и органов малого таза (травмы спинного мозга, последствия хирургических вмешательств, опухоли, урогенитальные свищи и др.), аутоиммунной, эндокринной патологии, метаболических расстройств; хронических заболеваний почек и печени; онкологических, гематологических и психических заболеваний; хронических воспалительных заболеваний (неспецифический язвенный колит и др.); прием гормональных препаратов, витамина D и иммунодепрессантов (глюкокортикоиды и др.).

В соответствии с действующими клиническими рекомендациями клиническое исследование включало анкетирование с помощью дополнительного опросника для оценки недержания мочи The Overactive Bladder Questionnaire (OAB-q), состоящего из 13 вопросов и нацеленного на оценку субъективной частоты отдельных симптомов за последние 4 недели. При этом сумма баллов, полученная при заполнении опросника, позволяет оценить качество жизни пациента, обусловленное симптомами недержания мочи [5].

Также все пациенты были обследованы лабораторно. Биологическим материалом служила сыворотка периферической крови. Методом иммуноферментного анализа согласно прилагаемым к наборам инструкциям определялись сывороточные концентрации 25(OH)D («DRG Instruments GmbH», Германия) как показатель насыщенности организма витамином D, а также миостатина («Imundiagnostik AG», Германия).

На следующем этапе исследования был выполнен корреляционный анализ, направленный

на поиск возможных зависимостей между возрастом женщин, длительностью постменопаузы, субъективной частотой отдельных симптомов недержания мочи, сывороточными концентрациями витамина D и миостатина. Для оценки возможного влияния временного фактора на качество жизни женщин, страдающих СНМ, был проведен расчет коэффициентов корреляции между показателями возраста, длительности постменопаузы и суммой баллов по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q. Кроме того, были рассчитаны коэффициенты корреляции между суммой баллов опросника OAB-q и сывороточными концентрациями 25(OH)D и миостатина.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «MedStat» и «MedCalc®Statistical Software version 20». Поскольку характер распределения выборок был отличным от нормального, расчет статистических показателей осуществлялся с применением непараметрических методов. Описательная статистика включала расчет медианы, 25% и 75% квартилей (Me [Q1; Q3]). Для корреляционного анализа производили расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s). Статистически значимым считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследованные пациенты имели следующие характеристики: возраст составил 65 [59; 71] лет; рост – 165 [161; 170] см; вес – 64 [59; 72] кг; длительность постменопаузы – 16 [10; 21] лет. Содержание 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста с СНМ составило 18,36 [13,85; 23,21] нг/мл. Сывороточные концентрации миостатина у обследованных пациентов составили 3,46 [3,00; 3,98] нг/мл.

Анализ данных дополнительного опросника для оценки недержания мочи OAB-q показал, что наиболее частыми симптомами у женщин постменопаузального возраста с СНМ являются: невозможность спать столько, сколько нужно (4,0 [4,0; 4,0] балла), невозможность хорошо выспаться ночью (3,5 [3,0; 4,0] балла), вынужденное снижение физических нагрузок (4,0 [3,0; 4,0] балла), а также чувство неудобства во время поездок с другими людьми ввиду необходимости останавливаться, чтобы сходить в туалет (4,0 [3,0; 4,0] балла). При этом 3 балла соответствуют субъективной частоте симптомов «иногда», а 4 балла – «довольно часто».

Статистическая обработка данных с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спир-

мена позволила выявить наличие как положительных, так и отрицательных корреляционных связей между исследуемыми показателями (табл. 1).

Как видно из данных, представленных в таблице, установлены положительные корреляционные зависимости между возрастом женщин и баллами, полученными при ответе на 6 вопросов опросника ОАВ-q, а также между длительностью постменопаузы и баллами, полученными при ответе на 4 вопроса опросника ОАВ-q ($p=0,001 - p=0,045$). Что касается исследованных лабораторных маркеров, то проведенный корреляционный анализ показал, что сывороточные концентрации витамина D снижаются с возрастом ($p=0,004$), а также по мере увеличения длительности постменопаузы ($p=0,023$). Уровни миостатина в сыворотке крови, напротив, с возрастом имеют тенденцию к нарастанию ($p=0,038$).

Дальнейшее проведение корреляционного анализа между возрастом женщин и суммой баллов опросника ОАВ-q установило наличие прямой корреляционной зависимости ($p<0,0001$) между исследуемыми показателями (рис. 1). Аналогичная корреляционная зависимость ($p<0,0001$) была выявлена между суммой баллов опросника ОАВ-q и длительностью постменопаузы (рис. 2).

Дальнейшее проведение корреляционного анализа между возрастом женщин и суммой баллов опросника ОАВ-q установило наличие прямой корреляционной зависимости ($p<0,0001$) между исследуемыми показателями (рис. 1). Аналогичная корреляционная зависимость ($p<0,0001$) была выявлена между суммой баллов опросника ОАВ-q и длительностью постменопаузы (рис. 2).

Таблица 1

Table 1

Показатели коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между возрастом женщин, длительностью постменопаузы, балльной оценкой частоты отдельных симптомов недержания мочи, сывороточными концентрациями витамина D и миостатина (n=150)

Indicators of Spearman's rank correlation coefficients between women's age, postmenopausal duration, scores for the frequency of individual symptoms of urinary incontinence, serum concentrations of vitamin D and myostatin (n=150)

Корреляты Correlates		Возраст, лет Age, years	Длительность постменопаузы, лет Duration of postmenopause, years
Баллы по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи ОАВ-q: Как часто за последние 4 недели из-за симптомов расстройств мочеиспускания... ОАВ-q Supplemental Incontinence Questionnaire Score: How often in the last 4 weeks due to urinary symptoms...	вы чувствовали, что с вами что-то не в порядке? did you feel like there was something wrong with you?	0.213 ($p=0.009$)	0.164 ($p=0.045$)
	вас раздражало то, что вам часто приходится ходить в туалет? have you been annoyed by having to go to the toilet so often?	0.198 ($p = 0.015$)	-
	вы были вынуждены избегать такой деятельности, при которой туалет недоступен? have you been forced to avoid activities where the toilet is not accessible?	0.280 ($p=0.001$)	0.280 ($p = 0.001$)
	у вас были проблемы с вашим партнером или супругом/-ой? have you had problems with your partner or spouse?	0.169 ($p=0.039$)	0.171 ($p=0.036$)
	вы чувствовали себя неловко? did you feel awkward?	0.185 ($p=0.024$)	0.188 ($p=0.021$)
	вы были вынуждены находить ближайший туалет, как только вы оказывались в новом месте? have you been forced to find the nearest toilet as soon as you find yourself in a new place?	0.181 ($p=0.027$)	-
Витамин D, нг/мл Vitamin D, ng/ml		-0,231 ($p=0,004$)	-0.186 ($p=0.023$)
Миостатин, нг/мл Myostatin, ng/ml		0,169 ($p=0,038$)	-

Проведение корреляционного анализа между уровнем витамина D в сыворотке крови и суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q установило наличие обратной корреляционной связи ($p < 0,0001$) между исследуемыми

показателями (рис. 3). Сывороточные концентрации миостатина положительно коррелировали ($p = 0,0004$) с суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q (рис. 4).

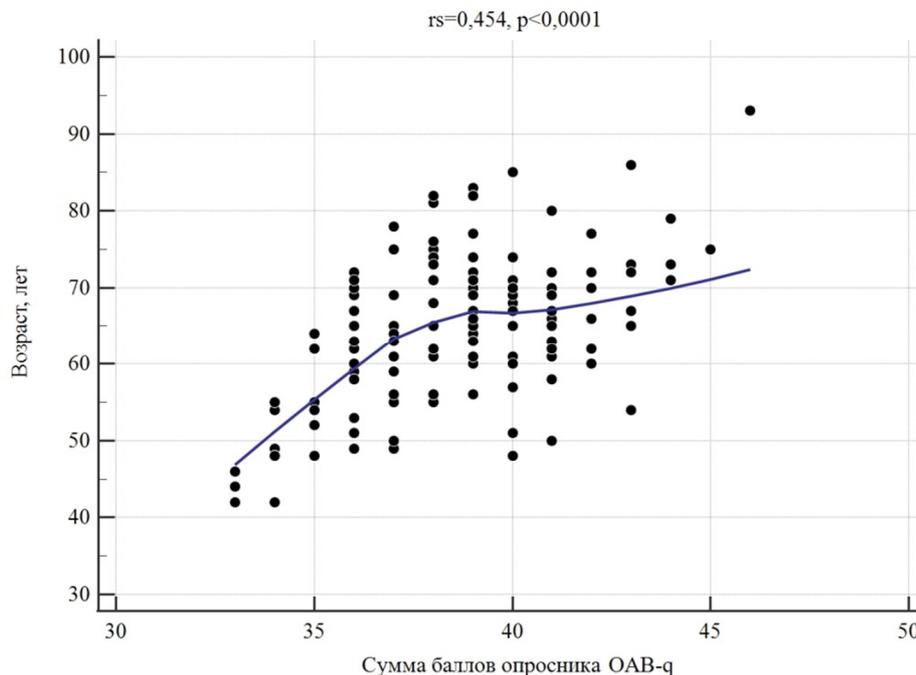


Рис. 1. Корреляционная зависимость между возрастом женщин с СНМ и суммой баллов, полученных ими по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q.

Fig. 1. Correlation between age and total scores on The Overactive Bladder Questionnaire in women with SUL.

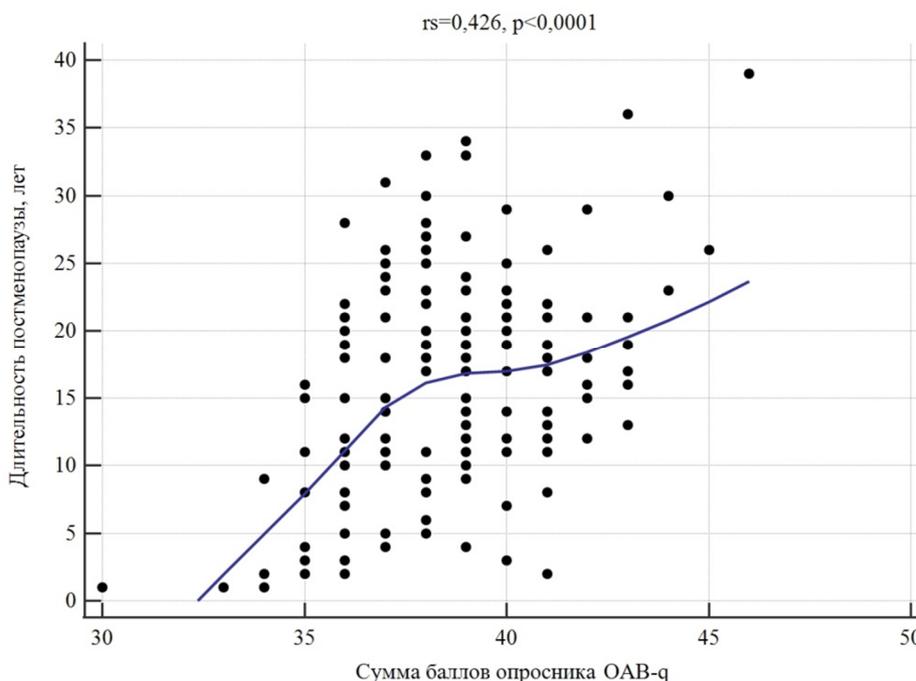


Рис. 2. Корреляционная зависимость между длительностью постменопаузы у женщин с СНМ и суммой баллов, полученных ими по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q.

Fig. 2. Correlation between postmenopausal duration and total scores on The Overactive Bladder Questionnaire in women with SUL.

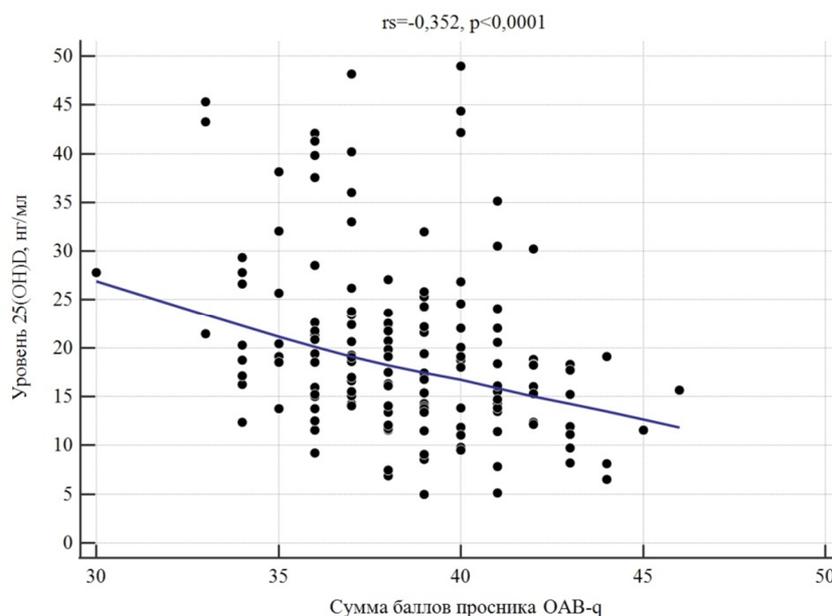


Рис. 3. Корреляционная зависимость между уровнем витамина D в сыворотке крови женщин с СНМ и суммой баллов, полученных ими по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q.

Fig. 3. Correlation between serum concentration of vitamin D and total scores on The Overactive Bladder Questionnaire in women with SU.

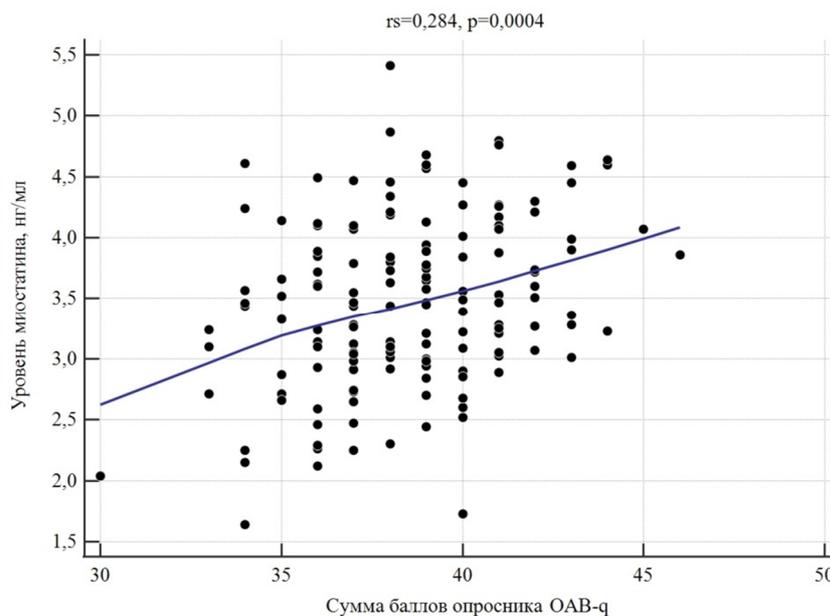


Рис. 4. Корреляционная зависимость между уровнем миостатина в сыворотке крови женщин с СНМ и суммой баллов, полученных ими по дополнительному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q.

Fig. 4. Correlation between serum concentration of myostatin and total scores on The Overactive Bladder Questionnaire in women with SU.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что субъективная частота симптомов СНМ у женщин, находящихся в постменопаузальном периоде, нарастает с возрастом ($p=0,001 - p=0,027$). Полученные результаты полностью согласуются с данными большинства работ, которые указывают возраст в качестве одного из важнейших факторов, влия-

ющих на частоту недержания мочи у женщин [3, 5-7]. Кроме того, полученная нами положительная корреляционная связь между возрастом женщин, страдающих СНМ, и суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q ($p<0,0001$) подтверждает сообщения о том, что со временем это состояние часто усугубляется [6]. Наряду с этим нами было показано, что увеличение

длительности постменопаузы также сопряжено со статистически значимым снижением качества жизни больных, обусловленным симптомами СНМ ($p < 0,0001$). Эти результаты, как и данные о том, что субъективная частота симптомов СНМ у женщин нарастает по мере увеличения длительности постменопаузы ($p = 0,001 - p = 0,045$), также согласуются с мнением большинства исследователей. Так, многими авторами период постменопаузы отмечен в качестве одного из наиболее значимых факторов риска развития СНМ [3, 5, 8, 9].

Следует отметить, что полученные нами результаты в целом соответствуют установленным к настоящему времени особенностям патогенеза заболевания. Возрастные изменения в нижних отделах мочевыводящих путей включают снижение емкости мочевого пузыря, снижение скорости сокращения мышц детрузора, снижение силы мышц тазового дна и увеличение остаточного объема мочи [1, 6]. Важно указать, что дистрофические изменения в мышцах тазового дна в значительной мере обусловлены изменениями мышечного метаболизма. В настоящее время значимая роль в данных процессах отводится дефициту витамина D. Так, рядом авторов показано, что низкий статус витамина D может способствовать снижению мышечной силы и развитию различных расстройств тазового дна, в том числе инконтиненции [10, 11]. Также в отдельных работах продемонстрирована важная роль недостаточности витамина D в нарастании симптомов СНМ и снижении качества жизни таких больных [10, 12]. Данные наблюдения полностью подтверждаются нашими собственными результатами, согласно которым сниженные сывороточные концентрации 25 (ОН)D сопряжены со значимым ($p < 0,0001$) снижением качества жизни женщин с СНМ.

Дегенеративные процессы, затрагивающие мышцы тазового дна, также тесно связаны с изменением синтеза различных эффекторных белков, включая миостатин [13]. Нами показано, что сывороточные уровни миостатина нарастают с возрастом ($p = 0,038$) и положительно коррелируют с суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q ($p = 0,0004$), отражающей влияние симптомов СНМ на качество жизни женщин. Данные наблюдения также согласуются с результатами экспериментальных работ, демонстрирующих ингибирующее влияние миостатина на пролиферацию миобластов рабдофинктера уретры и его роль в развитии симптомов СНМ [14, 15].

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что возраст женщин является фактором, с которым связано нарастание частоты субъективных симптомов СНМ ($r_s = 0,169 - r_s = 0,280$; $p < 0,05$), снижение сыворо-

точных концентраций витамина D ($r_s = -0,231$; $p = 0,004$) и увеличение уровней миостатина ($r_s = 0,169$; $p = 0,038$). Симптомы СНМ прогрессируют также при увеличении длительности постменопаузы ($r_s = 0,164 - r_s = 0,280$; $p < 0,05$). Увеличение длительности постменопаузы сочетается и со снижением содержания в сыворотке крови 25(ОН)D ($r_s = -0,186$; $p = 0,023$). Сумма баллов по дополнительному опроснику OAB-q, отражающая качество жизни пациентов с СНМ, имеет отрицательную корреляцию с концентрациями в сыворотке крови 25(ОН)D ($r_s = -0,352$; $p < 0,0001$) и положительную – с показателями миостатина ($r_s = 0,284$; $p = 0,0004$). Полученные данные позволяют рассматривать показатели возраста и длительности постменопаузы, а также сывороточные концентрации витамина D и миостатина, в качестве персонализированных предикторов снижения качества жизни женщин с СНМ в постменопаузальном периоде.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проведено на базе ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (г. Донецк) и ГБУЗ РК «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко» (г. Симферополь) в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации» и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. На проведение исследований получено разрешение локального этического комитета ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (протокол № 27/5-1 от 14.04.2021 г.). Всеми участниками исследования было подписано добровольное информированное согласие.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Майлян Э.А. – разработка концепции и дизайна исследования, планирование исследования, утверждение рукописи к публикации; Геворкян Р.Р. – обзор литературы, сбор данных, статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка текста; Резниченко Н.А. – участие в разработке дизайна исследования, обзор литературы, формулирование выводов; Ткаченко К.Е. – участие в разработке дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, проверка текста.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Yang J., Balog B., Deng K., Hanzlicek B., Rietsch A., Kuang M., Hatakeyama S., Lach-Trifilieff E., et al. Therapeutic potential of muscle growth promoters in

- a stress urinary incontinence model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2020;319(3):F436–F446. DOI: 10.1152/ajprenal.00122.2020.
2. Lukacz E.S., Santiago-Lastra Y., Albo M.E., Brubaker L. Urinary incontinence in women: a review. *JAMA*. 2017;318:1592–1604. DOI: 10.1001/jama.2017.12137.
 3. Касян Г.Р., Гвоздев М.Ю., Коноплянников А.Г., Пушкарь Д.Ю. *Недержание мочи у женщин: методические рекомендации № 4*. Москва: АБВ-пресс; 2017. [Kasyan G.R., Gvozdev M.Yu., Konoplyannikov A.G., Pushkar D.Yu. *Urinary incontinence in women: guidelines №4*. Moscow: ABV-press; 2017 (in Russ.)].
 4. Batmani S., Jalali R., Mohammadi M., Bokaee S. Prevalence and factors related to urinary incontinence in older adults women worldwide: a comprehensive systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Geriatr*. 2021;21(1):212. DOI: 10.1186/s12877-021-02135-8.
 5. *Недержание мочи: клинические рекомендации*. Москва: Издательство Перо; 2021. [*Urinary incontinence: clinical guidelines*. Moscow: Izdatel'stvo Pero; 2021 (in Russ.)].
 6. Witham M.D., Aihie Sayer A. Introduction to the Age and Ageing sarcopenia collection. *Age Ageing*. 2016;45(6):752–753. DOI: 10.1093/ageing/afw145.
 7. AlAzab R., Alomari R.A., Khader Y.S., Gharaibeh M. Stress urinary incontinence among Jordanian women living in rural areas: Prevalence, associated factors and self-management behaviours. *Arab J Urol*. 2021;19(4):469–472. DOI: 10.1080/2090598X.2021.1926751.
 8. Al-Badr A., Brasha H., Al-Raddadi R., Noorwali F., Ross S. Prevalence of urinary incontinence among Saudi women. *Int J Gynaecol Obstet*. 2012;117:160–163. DOI: 10.1016/j.ijgo.2011.12.014.
 9. Pérez-López F.R., Cuadros J.L., Fernández-Alonso A.M., Chedraui P., Sánchez-Borrego R., Monterrosa-Castro A. Urinary incontinence, related factors and menopause-related quality of life in mid-aged women assessed with the Cervantes Scale. *Maturitas*. 2012;73:369–372. DOI: 10.1016/j.maturitas.2012.09.004.
 10. Parker-Autry C.Y., Markland A.D., Ballard A.C., Downs-Gunn D., Richter H.E. Vitamin D status in women with pelvic floor disorder symptoms. *Int Urogynecol J*. 2012;23(12):1699–1705. DOI: 10.1007/s00192-012-1700-8.
 11. Yuan P., Wang T., Li H., Lan R., Li M., Liu J. Systematic Review and Meta-Analysis of the Association between Vitamin D Status and Lower Urinary Tract Symptoms. *J Urol*. 2021;205(6):1584–1594. DOI: 10.1097/JU.0000000000001441.
 12. Sharma J.B., Kakkad V., Kumar S., Roy K.K. Cross-sectional Study on Vitamin D Levels in Stress Urinary Incontinence in Women in a Tertiary Referral Center in India. *Indian J Endocrinol Metab*. 2019;23(6):623–627. DOI: 10.4103/ijem.IJEM_531_19.
 13. Cruz-Jentoft A.J., Baeyens J.P., Bauer J.M., Boirie Y., Cederholm T., Landi F., Martin F.C., Michel J.P., et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010;39(4):412–423. DOI: 10.1093/ageing/afq034.
 14. Akita Y., Sumino Y., Mori K., Nomura T., Sato F., Mimata H. Myostatin inhibits proliferation of human urethral rhabdosphincter satellite cells. *Int J Urol*. 2013;20(5):522–529. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2012.03186.x.
 15. Yuan H., Ruan Y., Tan Y., Reed-Maldonado A.B., Chen Y., Zhao D., Wang Z., Zhou F., et al. Regenerating Urethral Striated Muscle by CRISPRi/dCas9-KRAB-Mediated Myostatin Silencing for Obesity-Associated Stress Urinary Incontinence. *CRISPR J*. 2020;3(6):562–572. DOI: 10.1089/crispr.2020.0077.

Поступила в редакцию 24.04.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Майлян Э.А., Геворкян Р.Р., Резниченко Н.А., Ткаченко К.Е. Уровни витамина D и миостатина у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):31–38. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/03. EDN: FUOAVN.

VITAMIN D AND MYOSTATIN LEVELS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH STRESS URINARY INCONTINENCE

© Maylyan E.A.¹, Gevorkyan R.R.², Reznichenko N.A.², Tkachenko K.E.¹

¹ M. Gorky Donetsk State Medical University (DonSMU)

16, Ilyich Ave., Donetsk, Donetsk People's Republic, 283003, Russian Federation

² V.I. Vernadsky Crimean Federal University (V.I. Vernadsky CFU)

4, Vernadskogo Ave., Simferopol, Republic of Crimea, 295017, Russian Federation

Objective – to evaluate vitamin D and myostatin serum levels in postmenopausal women, and their associations with age, postmenopausal duration (PMD), and clinical severity of stress urinary incontinence (SUI).

Materials and methods. 150 postmenopausal women suffering from SUI were examined. Patients were interviewed using The Overactive Bladder Questionnaire. Serum concentrations of vitamin D and myostatin were studied.

Results. The subjective frequency of SUI symptoms in postmenopausal women increases with age and PMD ($p=0,001$ – $p=0,045$). Serum vitamin D concentrations decrease with age ($p=0,004$) and PMD ($p=0,023$). Serum myostatin levels increase with age ($p=0,038$). An increase in the age and PMD ($p<0,0001$), as well as reduced serum vitamin D concentrations ($p<0,0001$) and elevated myostatin levels ($p=0,0004$), are associated with a statistically significant decrease in the life quality of female patients with SUI.

Conclusions. The data obtained allow us to consider indicators of age and PMD, as well as serum concentrations of vitamin D and myostatin, as personalized predictors of deterioration in the life quality of women with SUI in the postmenopausal period.

Keywords: stress urinary incontinence; postmenopause; age; vitamin D; myostatin.

Maylyan Eduard A. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Allergology, DonSMU, Donetsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-2845-7750. E-mail: eduardmailyan095@gmail.com (corresponding author).

Gevorkyan Rudolf R. – Assistant Lecturer at the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, V.I. Vernadsky CFU, Simferopol, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-6281-4104. E-mail: rudolf.gevorkyan@bk.ru

Reznichenko Natalya A. – Dr. Sci. (Med.), Professor at the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, V.I. Vernadsky CFU, Simferopol, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3396-1046. E-mail: professorreznichenko@mail.ru

Tkachenko Kseniya E. – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Allergology, DonSMU, Donetsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-0816-5339. E-mail: t.xeniya@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.

COMPLIANCE WITH PRICIPLES OF ETHICS

The study was conducted on the basis of Donetsk State Medical University (Donetsk) and Republican Clinical Hospital named after N. A. Semashko (Simferopol) the in accordance with the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation" and the Declaration of Helsinki of the World Medical Association. Permission to conduct research was obtained from the local ethics committee of the Donetsk State Medical University (protocol No 27/5-1 of April 14, 2021). All study participants signed voluntary informed consent.

AUTHORS CONTRIBUTION

Maylyan E.A. – development of the concept and design of the study, planning the study, approval of the manuscript for publication; Gevorkyan R.R. – literature review, data collection, statistical processing, analysis and interpretation of the data obtained, text preparation; Reznichenko N.A. – participation in the development of research design, literature review, formulation of conclusions; Tkachenko K.E. – participation in the development of research design, review of critical intellectual content, text review.

Received 24.04.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Maylyan E.A., Gevorkyan R.R., Reznichenko N.A., Tkachenko K.E. Vitamin D and myostatin levels in postmenopausal women with stress urinary incontinence. *Humans and their health*. 2024;27(4):31–38. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/03. EDN: FUOAVN.

НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ РИСК: ОБЗОР

© Сулейманова С.В., Абакаров М.Г.

Дагестанский государственный медицинский университет (ДГМУ)

Россия, 367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, площадь им. Ленина, д. 1

Цель – обобщение результатов клинических исследований безопасности нестероидных противовоспалительных препаратов, в которых представлены сведения о механизмах развития нежелательных реакций, сопровождающихся повышением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений.

Материалы и методы. Проведен обзор литературы базы данных PubMed, отображающей связь риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, артериальной гипертензии, нарушений сердечного ритма, хронической сердечной недостаточности, а также риска серьезных сердечно-сосудистых осложнений: инфаркта миокарда и инсульта с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП).

Результаты. НПВП – одна из самых часто назначаемых групп лекарственных средств и сопряжена с развитием нежелательных реакций, в том числе тяжелых осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, что является актуальным для повышения безопасности терапии. Влияние НПВП на сердечно-сосудистую систему опосредовано через тромбоксан A₂, простаглицлин (PGI₂) и простаноиды, образующиеся под воздействием циклооксигеназ 1 и 2 (ЦОГ-1 и ЦОГ-2) соответственно. Тромбоксан A₂ обладает мощным сосудосуживающим и проагрегантными эффектами, PGI₂ и простагландины (PGE₂) – противоположным действием. Применение НПВП может вызвать нарушение баланса между ними, повышая риск сердечно-сосудистых заболеваний. Прием НПВП приводит к нарушениям в виде снижения натрийуреза, гиперкалиемии, увеличению объема циркулирующей крови, что может вызвать нарушение сердечного ритма, развитие инфаркта миокарда, инсульта и хронической сердечной недостаточности. Анализ клинических исследований показал, что все НПВП повышают сердечно-сосудистые риски (ССР) в зависимости от дозы, возраста, длительности приема, сопутствующих заболеваний и селективности. Из результатов рассмотренных исследований можно выделить, что относительно наибольшую безопасность в отношении развития ССР продемонстрировали цефекоксиб и напроксен, наименьшую – диклофенак, эторикоксиб, индометацин, кеторолак и промежуточную – ибупрофен.

Заключение. Назначение НПВП пациентам с патологией сердечно-сосудистой системы требует тщательного учета показаний и противопоказаний, мониторинга развития нежелательных реакций, выбора конкретного препарата и/или режима дозирования.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные препараты; ингибиторы циклооксигеназы; сердечно-сосудистый риск; нежелательные реакции; хроническая сердечная недостаточность; артериальная гипертензия; фибрилляция предсердий; инфаркт миокарда; инсульт.

Сулейманова Саида Владимировна – ассистент кафедры клинической фармакологии, ДГМУ, г. Махачкала. ORCID iD: 0009-0009-3901-8578. E-mail: suleimanova.saida2015@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Абакаров Магомед Гаджиевич – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой клинической фармакологии, ДГМУ, г. Махачкала. ORCID iD: 0009-0006-6397-4584 E-mail: avicenna61@mail.ru

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) являются одной из наиболее широко применяемых групп лекарственных средств, что связано с их эффективностью при лечении широкого спектра заболеваний и доступностью. Препараты этой группы могут использоваться пациентами для самолечения, нередко без учета противопоказаний, побочного действия и возможных лекарственных взаимодействий [1, 2].

Результаты клинических исследований и метаанализов убедительно показывают, что применение практически всех НПВП, в том числе и современных селективных ингибиторов циклооксигеназы, приводит к повышению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и увеличению сердечно-сосудистых рисков (ССР), хотя кардиотоксический потенциал

разных препаратов отличается и зависит от дозы [1, 3]. Так, напроксен и ибупрофен в низких дозах имеют меньший риск сердечно-сосудистых осложнений (ССО) по сравнению с другими НПВП [4], тогда как рофекоксиб в дозе 25 мг, по данным многоцентрового рандомизированного плацебо-контролируемого двойного слепого исследования APPROVe (The Adenomatous Polyp Prevention on Vioxx), в котором участвовали 2587 пациентов, достоверно увеличивал ССР (отношение рисков (ОР) 1,92; 95% доверительный интервал (ДИ): 1,19-3,11), что стало поводом для прекращения исследования и последующего изъятия рофекоксиба с фармацевтического рынка [5, 6].

В связи с этим актуальным является проведение обзора данных литературы о влиянии НПВП на риск развития ССЗ и серьезных ССО и

об основных механизмах развития нежелательных реакций (НР) со стороны сердечно-сосудистой системы (ССС) при применении препаратов этой группы. Систематизация такой информации позволит врачам проводить оценку ССР у пациентов с имеющимися заболеваниями сердца и сосудов и без них при необходимости назначения НПВП, оптимизировать выбор препарата и схему его дозирования.

Цель работы – обобщение результатов клинических исследований безопасности нестероидных противовоспалительных препаратов, в которых представлены сведения о механизмах развития нежелательных реакций, сопровождающихся повышением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поиск информации проводили в базе данных PubMed по ключевым словам на русском и английском языках: «селективные ЦОГ-2», «неселективные НПВП», «сердечно-сосудистый риск», «инфаркт миокарда», «артериальная гипертензия», «сердечная недостаточность», «фибрилляция предсердий», «инсульт». Критерии включения публикаций в обзор: клинические исследования, наличие рандомизации пациентов и группы контроля, проспективные и ретроспективные, когортные, исследования типа «случай–контроль», систематические обзоры и метаанализы. Критерии исключения: исследования любого другого дизайна, клинические случаи, доклинические исследования на животных. 18 исследований соответствовали критериям отбора и были продемонстрированы в данном обзоре. Глубина поиска составила 10 лет. В обзор были включены также более ранние публикации, если в них были описаны механизмы развития НР.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы влияния НПВП на сердечно-сосудистую систему

В норме под воздействием фермента циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) из арахидоновой кислоты образуются тромбоксан А₂ (ТхА₂) и простагландин (PGE₂). Активность ЦОГ-1 приводит к образованию ТхА₂ в эндотелии сосудов и активированных тромбоцитах. Под воздействием НПВП даже в небольших дозах происходит ингибирование активности фермента и нарушение образования ТхА₂, обладающего мощным сосудосуживающим и стимулирующим агрегацию тром-

боцитов действием. В отличие от ТхА₂ PGE₂ оказывает противоположное действие на тромбоциты и сосудистый кровоток [7, 8].

При патологических состояниях, таких как артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД) или хроническая сердечная недостаточность (ХСН), увеличивается синтез фермента ЦОГ-2 как в корковом, так и в мозговом веществе почек [9]. Известно, что блокада ЦОГ-2 приводит к снижению синтеза простагландина (PGE₂), который играет важную роль в опосредованном эндотелием тоне сосудов и демонстрирует гипотензивный эффект, за счет стимуляции рецепторов EP₂ и EP₄, которые подавляют проникновение Ca²⁺ в клетку, а также снижает действия ангиотензина II, в частности, вазоконстрикцию и реабсорбцию ионов натрия [10, 11].

Активность изоферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2, имеющих ключевую роль в поддержании баланса между ТхА₂ и PGE₂, так и во влиянии на продукцию PGE₂ при патологических состояниях, является мишенью для НПВП. Разная селективность НПВП по отношению к ЦОГ-1 и ЦОГ-2 выражается в разном снижении эффектов PGE₂ и PGI₂ (антитромботического и сосудорасширяющего) и ТхА₂ (проагрегантного и сосудосуживающего): препараты, подавляющие ЦОГ-2 за счет ингибирования синтеза PGI₂ и PGE₂ клетками сосудистого эндотелия, не оказывают влияния на синтез ТхА₂ тромбоцитами, который контролируется ЦОГ-1. Нарушение баланса ТхА₂, PGI₂ и PGE₂ может приводить к усиленной активации, агрегации и адгезии тромбоцитов, способствуя развитию тромбоза, атеросклероза, ХСН, аритмии и других ССО [11-13].

В этом контексте обсуждается и другой механизм повышения ССР и возникновения ССО при применении НПВП – индукция апоптоза различных клеток, включая кардиомиоциты и клетки сосудистого эндотелия и увеличение выработки активных форм кислорода за счет изменения специфических клеточных сигнальных путей [14]. НПВП могут вызывать активацию митохондриального окислительного стресса – цитопатологического состояния, характеризующегося серьезным повреждением митохондрий вследствие активации вредных окислительно-активных цепных реакций, за которыми следует тяжелый биоэнергетический кризис и, в конечном итоге, гибель клеток [15].

Как неселективные НПВП, так и селективные ингибиторы ЦОГ-2 могут повышать активность антидиуретического гормона, нарушая выведение свободной воды и натрия [9]. Задержка натрия на фоне применения НПВП с образованием или усилением выраженности отеков и

развитием резистентности к диуретикам [9, 16, 17] особенно опасна для пациентов с АГ и ХСН.

Гиперкалиемия, вызываемая приемом НПВП, может быть результатом снижения секреции ренина и альдостерона за счет уменьшения выработки PGI₂ и чувствительности к ангиотензину II в коре надпочечников. [18]. Гиперкалиемия также может быть результатом нефротоксичности НПВП и потенцироваться одновременным приемом препаратов, способствующих повышению уровня калия в плазме крови (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ), блокаторы рецептора ангиотензина II (БРАП), прямые ингибиторы ренина и калийсберегающие диуретики) [26].

НПВП и артериальная гипертензия

Селективные ингибиторы ЦОГ-2 и неселективные НПВП могут вызывать повышение артериального давления (АД) как у нормотензивных, так и у гипертензивных пациентов [19, 20]. По некоторым оценкам степень повышения АД, связанная с приемом НПВП, составляет около 1-2 мм рт. ст. у нормотензивных пациентов и может достигать 14 мм рт. ст. у пациентов с АГ [21, 22]. НПВП могут снижать эффективность лечения антигипертензивными препаратами у пациентов с АГ благодаря механизмам, связанным с ингибированием образования PGI₂ [21-23].

Повышению уровня систолического АД (САД) может способствовать снижение натрийуреза и увеличение объема циркулирующей крови, усиление резистентности сосудов почек, снижение почечного кровотока и клубочковой фильтрации [24]. Негативное воздействие на АД связано с влиянием на ЦОГ-2, а значит, прогипертензивное действие будут оказывать и селективные, и неселективные НПВП [24-26].

Различные НПВП в разной степени повышают АД. Так, в многоцентровом рандомизированном двойном слепом исследовании PRECISION-ABPM (Prospective Randomized Evaluation of Celecoxib Integrated Safety Versus Ibuprofen or Naproxen Ambulatory Blood Pressure Measurement) проводили сравнение влияния на суточную динамику АД целекоксиба (100-200 мг 2 раза/сут.), ибупрофена (600-800 мг 3 раза/сут.) и напроксена (375-500 мг 2 раза/сут.) у 444 пациентов с остеоартритом и ревматоидным артритом в сочетании с ишемической болезнью сердца (ИБС) или повышенным риском ее развития [18]. Изменение среднего 24-часового САД у пациентов, получавших целекоксиб, ибупрофен и напроксен, составило 0,3 (95% ДИ: 2,25, 1,74), 3,7 (95% ДИ: 1,72-5,58) и 1,6 мм

рт. ст. (95% ДИ: 0,40-3,57) соответственно. Доля пациентов с нормальным исходным АД, у которых развилась АГ (среднее 24-часовое систолическое АД ≥ 130 и/или диастолическое АД ≥ 80 мм рт. ст.), составила 23,2% для ибупрофена, 19,0% для напроксена и 10,3% для целекоксиба (отношение шансов (ОШ): 0,39; уровень значимости $p=0,004$ и ОШ: 0,49, $p=0,03$ по сравнению с ибупрофеном и напроксеном соответственно). На основании полученных результатов авторы пришли к выводу, что применение неселективного НПВП ибупрофена по сравнению с селективным ингибитором ЦОГ-2 целекоксибом и неселективным напроксеном было связано со значительным повышением САД и более высокой частотой развития, впервые возникшей АГ [26].

Связь применения НПВП с риском подъема АД у пациентов с анкилозирующим спондилитом была подтверждена в проспективном когортном исследовании с участием 1282 пациентов [27]. Исходно не имели АГ 628 пациентов, из них 200 применяли НПВП постоянно, остальные 428 – нерегулярно в низких дозах или не использовали препараты этой группы. По окончании периода наблюдения (медиана 7 лет, межквартильный размах 5,2 г) АГ развилась у 129 пациентов. Было показано, что непрерывное применение НПВП связано с увеличением риска развития АГ на 12% (ОР: 1,12; 95% ДИ: 1,04-1,20, $p=0,01$) по сравнению с нерегулярным использованием или его отсутствием [27].

Метаанализ 20 рандомизированных клинических исследований [28] продемонстрировал связь ССР с приемом НПВП при лечении артрита. В 8 исследованиях из 20 (общее число пациентов – 12601) изучали влияние 8 НПВП (эторикоксиб, напроксен, ибупрофен, рофекоксиб, набуметон, целекоксиб, амтолметин гуацил и диклофенак) в сравнении с плацебо на риск развития АГ. Применение ибупрофена было ассоциировано с наибольшей частотой развития АГ по сравнению с плацебо (ОШ: 3,24; 95% ДИ: 1,71-5,82), амтолметин гуацила – с наименьшей (ОШ: 0,25; 95% ДИ: 0,01-1,76) [28].

Применение: НПВП, таким образом, сопровождается ССР, особенно у пациентов с уже имеющимися заболеваниями ССС.

НПВС и нарушения сердечного ритма

Влияние ингибирования ЦОГ-1 и ЦОГ-2 на развитие и рецидивы ФП изучено в различных исследованиях и имеет обширную доказательную базу [29-33]. Результаты исследования типа «случай–контроль», охватывающего данные 32602 пациентов с впервые установленным диагнозом фибрилляции или трепетания пред-

сердий и 325918 пациентов в группе контроля показало, что у лиц, принимающих как неселективные НПВП, так и селективные ингибиторы ЦОГ-2, риск первого эпизода ФП или трепетания предсердий был выше на 33% и 50% соответственно по сравнению с пациентами, которые не использовали препараты этой группы. Более высокий риск был выявлен у пожилых людей, у пациентов с хроническим заболеванием почек или ревматоидным артритом, особенно в период начала терапии ингибиторами ЦОГ-2 [29].

В ходе крупного когортного популяционно-го исследования, проведенного в Швеции, включающего 7 миллионов человек, рассматривалась связь ССР с приемом препаратов группы коксибов (целекоксиба и эторикоксиба) в средних суточных дозах 187 ± 213 и 39 ± 48 мг соответственно. Один из отслеживаемых исходов – развитие ФП. Анализ данных выявил повышенный риск возникновения ФП при приеме эторикоксиба (ОР: 1,353; 95% ДИ: 1,189-1,540; $p < 0,0001$), тогда как для целекоксиба значимых связей не наблюдалось (ОР: 0,936; 95% ДИ: 0,786–1,114; $p = 0,4543$) [34].

Результаты систематического обзора, в котором рассмотрены 4 исследования типа «случай–контроль» и 4 когортных исследования, включавшие в общей сложности данные 14806420 пациентов, показали, что риск развития ФП был выше у пациентов, применявших НПВП, по сравнению с пациентами, не принимавшими препараты этой группы: совокупный показатель ОР у пациентов, использовавших НПВП: 1,29 (95% ДИ: 1,19-1,39) [35]. Анализ подгрупп в исследовании выявил значительную связь между применением НПВП и ФП как в исследованиях типа «случай–контроль» (ОР: 1,37; 95% ДИ: 1,15-1,63), так и в когортных исследованиях (ОР: 1,22; 95% ДИ: 1,14-1,31). При проведении анализа данных по конкретным НПВП установлено, что совокупный показатель ОР возникновения ФП у пациентов, принимавших ибупрофен, составил 1,30 (95% ДИ: 1,22-1,39), напроксен – 1,44 (95% ДИ: 1,18-1,76), диклофенак – 1,37 (95% ДИ: 1,10-1,71). Полученные результаты указывают, что различные НПВП в разной степени повышают риск развития ФП, наименьший риск отмечен для ибупрофена [35].

Механизмы развития ФП при применении НПВП неясны. Были выдвинуты предположения что ингибирование ЦОГ-2 в почках может запускать каскад событий, включая задержку жидкости, повышение АД, повышение конечного диастолического давления, что в итоге приводит к возникновению ФП [36]. Нарушение реполяризации кардиомиоцитов, которое также сопряжено с развитием ФП, может способствовать гиперкалиемии, вызванной приемом

НПВП [37]. Некоторые НПВП могут ингибировать электрофизиологическую регуляцию натриевых каналов сердца и тем самым способствовать увеличению риска ФП [38].

НПВП и хроническая сердечная недостаточность

Применение неселективных и селективных НПВП может приводить к нарушению выведения натрия и воды, повышению сосудистого тонуса, нарушению функции почек, что способствует повышению риска развития ХСН [39]. НПВП и коксибы могут вызывать развитие новых случаев ХСН, усугублять застойные явления и способствовать повторной госпитализации пациентов с уже имеющейся патологией [40].

Результаты клинических исследований указывают на взаимосвязь развития ХСН с приемом НПВП. Так, в исследовании типа «случай–контроль» оценивали риск госпитализации по поводу ХСН при использовании 23 неселективных НПВП и 4 селективных ингибиторов ЦОГ-2. Было выявлено 92163 госпитализации по поводу ХСН, данные которых были сопоставлены с данными 8246403 пациентов группы контроля) [41]. Обнаружено, что применение любого НПВП в период 14 суток, предшествующих госпитализации, связано с повышением риска госпитализации по поводу ХСН на 19% (скорректированное ОШ: 1,19; 95% ДИ: 1,17-1,22) по сравнению с более ранним применением любого НПВП (в период от 15 до 183 суток до госпитализации). Риск госпитализации с ХСН увеличивался при приеме как неселективных, так и селективных НПВП: диклофенака, ибупрофена, индометацина, кеторолака, напроксена, нимесулида, пироксикама, эторикоксиба и рофекоксиба. Наименьший риск был отмечен для напроксена (ОШ: 1,16; 95% ДИ: 1,07-1,27), наибольший – для кеторолака (ОШ: 1,83; 95% ДИ: 1,66-2,02) [41]. Риск развития ХСН дозозависимо удваивался при применении диклофенака, эторикоксиба, индометацина, пироксикама и рофекоксиба в очень высоких дозах (≥ 2 эквивалентов суточной дозы), хотя некоторые доверительные интервалы были широкими. Использование индометацина и эторикоксиба даже в средних дозах (0,9-1,2 эквивалента суточной дозы) было связано с повышенным риском развития ХСН. В то же время не было получено подтверждение того, что целекоксиб в стандартных дозах повышал риск госпитализации с декомпенсацией хронической ХСН [41].

В реестровом исследовании Е.И. Тарловской и соавт., включавшем 336 пациентов, госпитализированных в связи с развитием ХСН, 18,75% принимали НПВП на амбулаторном этапе без

назначения врача и 49,2% из них продолжили прием НПВП в стационаре. У пациентов с ХСН, принимавших НПВП, чаще имела место анемия, был ниже уровень гематокрита и гемоглобина, особенно при приеме НПВП ≥ 1 раза/нед. Частота экстренных госпитализаций в связи с острой декомпенсацией ХСН в зависимости от приема НПВП достоверно не различалась [42].

Кратковременное применение НПВП было связано с повышенным риском госпитализации по поводу ХСН (ОШ: 1,43; 95% ДИ: 1,27-1,63), особенно у пациентов в возрасте ≥ 80 лет (ОШ: 1,78; 95% ДИ: 1,39-2,28), у пациентов с повышенным уровнем гликированного гемоглобина (ОШ: 1,68; 95% ДИ: 1,00-2,88) и у пациентов, ранее не применявших НПВП (ОШ: 2,71; 95% ДИ: 1,78-4,23) [39].

Результаты крупного метаанализа, оценивающего влияние на ССР селективных ингибиторов ЦОГ-2 и включающего 40 рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследований с участием пациентов с остеоартритом, продемонстрировали, что применение ингибиторов ЦОГ-2 было связано со значительным повышением риска развития НР, связанных с приемом НПВП, по сравнению с плацебо (ОР: 1,26; 95% ДИ: 1,09-1,46, показатель гетерогенности $I^2=24\%$). Риск развития ХСН и отеков был повышен почти на 70% при применении селективных ингибиторов ЦОГ-2 по сравнению с плацебо (ОР: 1,68; 95% ДИ: 1,22-2,31, $I^2=0\%$). При исключении из анализа рофекоксиба уровень риска существенно не изменился для целекоксиба и эторикоксиба (ОР: 1,67; 95% ДИ: 1,21-2,29, $I^2=0\%$) [43].

Ретроспективное исследование, основанное на данных общенационального датского регистра [44], включало 331189 пациентов с СД 2 типа: 16% пациентов потребовалось назначение по крайней мере одного НПВП (ибупрофен 12,2%, диклофенак 3,3%, напроксен 0,9%, и целекоксиб 0,4%) в течение 1 года. За время наблюдения 23308 пациентов были госпитализированы с впервые выявленной ХСН. Связь госпитализации наблюдалась с 28-дневным приемом диклофенака и ибупрофена (ОШ: 1,48; 95% ДИ: 1,10-2,00 и ОШ: 1,46; 95% ДИ: 1,26-1,69 соответственно), в то время как для целекоксиба и напроксена не было получено статистически значимых результатов.

С патофизиологической точки зрения применение НПВП может противодействовать положительному эффекту блокады ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (с применением ИАПФ или БРАП) на сосудистый тонус, сводя к минимуму влияние диуретиков на отечный синдром у пациентов с ХСН. В частности, ингибирование ЦОГ-2 в почках, по видимому, имеет большое значение в индукции

вазоконстрикции, антидиуреза и антинатриуреза как на животных моделях с ХСН, так и у людей [9].

Данные исследования показали, что НПВП и коксибы могут вызывать зависимое от дозы и возраста пациентов развитие новых случаев ХСН и увеличивать риск госпитализации с ХСН.

НПВП и инфаркт миокарда

Связь между применением НПВП и ССР была проанализирована в метаанализе [40], объединившем результаты 184 исследований (88367 участников) эффективности и безопасности коксибов (целекоксиб, рофекоксиб, эторикоксиб и люмиракоксиб) по сравнению с плацебо и 113 исследований, в которых сравнивали коксибы с неселективными НПВП (диклофенак в 33 исследованиях, $n=61\ 572$; ибупрофен в 22 исследованиях, $n=22\ 225$; напроксен в 48 исследованиях, $n=48\ 706$; другой НПВП в 14 исследованиях, $n=6192$). Основные рассматриваемые первичные исходы: сосудистые события (нефатальный ИМ, нефатальный инсульт или сосудистая смерть), коронарные события (нефатальный ИМ или коронарная смерть), инсульт, смертность, ХСН. Суточные дозы препаратов: диклофенак 150 мг, ибупрофен 2400 мг, напроксен 1000 мг, целекоксиб 100-800 мг, рофекоксиб 12,5-125 мг, люмиракоксиб 100-800 мг, эторикоксиб 5-120 мг.

Большая часть данных об основных сосудистых событиях была получена для стандартных доз коксибов (целекоксиб 400 мг, рофекоксиб 25 мг, люмиракоксиб 200 мг, эторикоксиб 60-90 мг). Показано, что по сравнению с плацебо риск основных сосудистых событий возрос примерно на треть при приеме коксибов (коэффициент распространенности (rate ratio, RR): 1,37; 95% ДИ: 1,14-1,66, $p=0,0009$) и диклофенака (RR: 1,41; 95% ДИ: 1,12-1,78, $p=0,0036$) в основном из-за увеличения количества серьезных коронарных событий при их применении (RR: 1,76; 95% ДИ: 1,31-2,37, $p=0,0001$ и RR: 1,70; 95% ДИ: 1,19-2,41, $p=0,0032$ соответственно). Прием ибупрофена также значительно увеличивал количество основных коронарных событий (RR: 2,22; 95% ДИ: 1,10-4,48, $p=0,0253$), но не основных сосудистых событий (RR: 1,44; 95% ДИ: 0,89-2,33). Напроксен существенно не увеличивал риск развития основных сосудистых событий (RR: 0,93; 95% ДИ: 0,69-1,27). Сосудистая смертность достоверно повышалась при приеме коксибов (RR: 1,58; 99% ДИ: 1,00-2,49, $p=0,0103$) и диклофенака (RR: 1,65; 95% ДИ: 0,95-2,85, $p=0,0187$), незначимо – ибупрофена (RR: 1,90; 95% ДИ: 0,56-6,41, $p=0,17$) и не увеличивалась при приеме напроксена (RR: 1,08; 95% ДИ: 0,48-2,47, $p=0,80$) [40].

НПВП и инсульт

В то же время, по данным общенационального популяционного перекрестного исследования пациентов с подагрой в возрасте ≥ 18 лет ($n=59\ 150$) в Дании [45], применение НПВП не было ассоциировано с повышением риска развития ССО, в том числе ИМ. Рассматривали влияние НПВП как в целом, так и конкретных препаратов (ибупрофен, напроксен, диклофенак). Использование НПВП в целом было связано со снижением риска сердечно-сосудистых событий на 12% (ОШ: 0,88; 95% ДИ: 0,85-0,91). Такое снижение наблюдалось при использовании ибупрофена (ОШ: 0,92; 95% ДИ: 0,88-0,97) и напроксена (ОШ: 0,85; ДИ: 0,74-0,97), но не диклофенака (ОШ=0,97, 95% ДИ: 0,90-1,05). Авторы пришли к выводу, что в целом использование НПВП у пациентов с подагрой не было связано с увеличением частоты ССО. Ибупрофен и напроксен имели лучшие профили в отношении ССР, чем диклофенак [45].

В другом исследовании типа «случай–контроль» (число участников $n=1125$) у пациентов с нефатальным ИМ показано отсутствие связи приема диклофенака или напроксена с развитием ИМ с подъемом ST (ОШ: 0,9; 95% ДИ: 0,4-1,9 и ОШ: 1,0; 95% ДИ: 0,6-1,7 соответственно), но продемонстрирована достоверная связь с развитием ИМ без подъема ST (ОШ: 2,8; 95% ДИ: 1,2-6,4 и ОШ: 0,4; 95% ДИ: 0,2-0,9 соответственно) [46].

В популяционном когортном исследовании с участием 35399 пациентов с подозрением на ИБС (у 28581 (81%) впоследствии не было выявлено ИБС, у 6818 (19%) диагностирована необструктивная ИБС) 6,4% пациентов принимали НПВП в период исследования, 8,2% принимали их ранее и 85% никогда не принимали препараты этой группы. НПВП были разделены на неселективные (ибупрофен, напроксен, кетопрофен, дексипрофен, пироксикам, толфенамовая кислота), старые ингибиторы ЦОГ-2 (диклофенак, этодолак, набуметон, мелоксикам) и новые ингибиторы ЦОГ-2 – коксибы (целекоксиб, рофекоксиб, вальдекоксиб, парекоксиб, эторикоксиб). Полученные результаты свидетельствуют о том, что на фоне применения любых НПВП риск развития ИМ при отсутствии ИБС увеличивался на 33% (ОР: 1,33; 95% ДИ 1,06-1,68), при необструктивной ИБС – на 48% (ОР: 1,48; 95% ДИ 1,06-2,07). Частота развития ИМ при использовании неселективных НПВП повышалась в 1,28 раза (95% ДИ: 0,99-1,65), ингибиторов ЦОГ-2 – в 1,74 раза (95% ДИ: 1,01-3,03) по сравнению с пациентами, не принимавшими НПВП. Применение НПВП, таким образом, способствует повышению риска развития ИМ как у пациентов с ИБС, так и при ее отсутствии [47].

В исследовании типа «случай - контроль» (число пациентов $n=2888$, участники контроля $n=20000$) показано, что повышенный риск развития нефатального ИИ был обнаружен при применении диклофенака (ОР=1,53; 95% ДИ: 1,19-1,97), особенно при использовании высоких доз (ОР = 1,62; 95% ДИ, 1,06-2,46), в течение длительного периода (> 365 дней; ОР = 2,39; 95% ДИ: 1,52-3,76) и у пациентов с высоким фоновым риском ССЗ (с историей атеротромботического заболевания или СД) (ОР=1,78; 95% ДИ: 1,23-2,58), а также при применении ацеклофенака в высоких дозах (ОР=1,67; 95% ДИ: 1,05-2,67), при длительном лечении (ОР=2,00; 95% ДИ: 1,14-3,53) и у пациентов со средним риском ССЗ (без записей об атеротромботическом заболевании или СД, но с одним из факторов риска ССЗ: АГ, дислипидемия, курение и почечная недостаточность) (ОР=2,33; 95% ДИ: 1,40-3,87). Не было обнаружено никакой связи с ибупрофеном (ОР=0,94; 95% ДИ: 0,76-1,17) или напроксеном (ОР=0,68; ДИ: 0,36-1,29) [48].

Метаанализ, включавший 10 исследований (7 исследований «случай–контроль» и 3 когортных исследования) с 1489120 участниками, продемонстрировал, что использование НПВП, в целом, было связано с незначительным риском геморрагического инсульта RR 1,09 (95%ДИ: 0,98-1,22). Но анализ отдельных НПВП (диклофенак, ибупрофен, индометацин, мелоксикам, напроксен, пироксикам, целекоксиб и рофекоксиб) продемонстрировал небольшое повышение риска при использовании ибупрофена, мелоксикама, индометацина, напроксена и диклофенака, но статистически значимые результаты наблюдались только у диклофенака (RR 1,27; 95% ДИ: 1,02-1,59) и мелоксикама (RR 1,27; 95% ДИ: 1,08-1,50). Оценка риска для пользователей рофекоксиба была выше, но статистически незначимой (RR 1,35; 95% ДИ: 0,88-2,06) [49].

Мультицентровое европейское исследование включало 4593778 пользователей НПВП. Из них рассматривались 49170 случаев ИИ сопоставимо с 49118 участниками контрольной группы. Исследование показало, что использование как коксибов (ОШ 1,08, 95% ДИ: 1,02-1,15), так и неселективных НПВП (ОШ 1,16, 95% ДИ: 1,12-1,19) было связано с повышением риска развития ИИ. Среди отдельных НПВП наибольший риск был связан с текущим применением кеторолака (ОШ 1,46; 95% ДИ: 1,19-1,78), диклофенака (ОШ 1,26; 95% ДИ: 1,20-1,32), индометацина (ОШ 1,24; 95% ДИ: 1,02-1,51), ибупрофена (ОШ 1,15; 95% ДИ: 1,09-1,22), нимесулида (ОШ 1,14; 95% ДИ: 1,06-1,23), диклофенака с ми-

зопростолом (ОШ 1.14, 95% ДИ: 1.01-1.29) и пироксикама (ОШ 1.13, 95% ДИ: 1.01-1.27). Напроксен (ОШ 1,03; 95% ДИ: 0,91-1,16), мелоксикам (ОШ 0,96, 95% ДИ: 0,85-1,08) и кетопрофен (ОШ 0,94; 95% ДИ: 0,83-1,07) не показали повышение риска развития ИИ [50].

Исследование типа «случай–контроль» оценивало связь развития кардиоваскулярных и цереброваскулярных событий (КЦС) у пациентов на диализе с приемом неселективных и селективных НПВП. Период приема НПВП составил 1-30 дней, контрольный период развития событий – 61-90 и 91-120 дней. Количество участников n=3433 и группа контроля n=6866. У 693 пациентов наблюдался нефатальный ИМ, 1045 перенесли реваскуляризацию, 62 пациента перенесли аортокоронарное шунтирование и 1957 пациентов перенесли ИИ. Из 3433 случаев 54,3% подвергались воздействию НПВП в период наблюдения. При приеме всех видов НПВП отмечалось значительное увеличение частоты КЦС (скорректированные ОШ (сОШ) 1,37; 95% ДИ: 1,26-1,50) и смертности (сОШ 1,29; 95% ДИ: 1,22-1,36). Риск развития КЦС был значительно повышен у пациентов, принимавших неселективные НПВП (сОШ 1,39; 95% ДИ: 1,28-1,52), в сравнении с селективными ингибиторами ЦОГ-2. Отдельные неселективные НПВП: пироксикам (сОШ 1,66; 95% ДИ: 1,17-2,36), диклофенак (сОШ 1,54; 95% ДИ: 1,35-1,77), талнифлумат (сОШ 1,48; 95% ДИ: 1,18-1,86), декс-ибупрофен (сОШ 1,45; 95% ДИ: 1,15-1,83) и ацеклофенак (сОШ 1,32; 95% ДИ: 1,11-1,56) показали значительное увеличение риска КЦС. Однако риск КЦС и смертности не увеличивался в зависимости от дозы НПВП [51].

Врачам следует проявлять особую осторожность при назначении НПВП, учитывая связь с сердечно-сосудистыми исходами и смертностью, которая может возникнуть независимо от дозы и продолжительности воздействия.

Таким образом, изучение НР в связи с применением в клинической практике НПВП выявило целый ряд нежелательных событий, связанных с повышением ССР и ССО, в частности, с развитием АГ, ХСН, ФП, ИМ и инсульта. Этот риск варьирует в зависимости от препаратов и дозы, но оценка величины риска требует дополнительных клинических исследований, в том числе с учетом возможных лекарственных взаимодействий, что осталось за рамками настоящей работы.

В основе ССР лежит разностороннее влияние НПВП на ССС: смещение баланса между TA2 и PGI2, а также влияние на продукцию PGE2 при патологических состояниях приводит к проагрегантному и вазоконстрикторному эффектам; изменение электролитного и водного

баланса, что проявляется в развитии гиперкалиемии, гипернатриемии и отеков, влияние на электрофизиологическую регуляцию натриевых каналов сердца, усиление резистентности сосудов почек, снижение почечного кровотока и клубочковой фильтрации.

Исходя из результатов рассмотренных исследований можно выделить НПВП с наибольшим, наименьшим и средним ССР.

Так в отношении АГ наибольшим риском обладает ибупрофен, он повышает САД и чаще приводит к выявлению впервые возникшей АГ, причем риск прерывистого приема ниже по сравнению с постоянным приемом. Амтолметина гуацил, целекоксиб и напроксен показали наименьший риск развития АГ, а эторикоксиб, набуметон и диклофенак – средний.

Результаты исследования развития ФП показали, что у лиц, принимающих как неселективные НПВП, так и селективные ингибиторы ЦОГ-2, риск первого эпизода ФП или трепетания предсердий был выше на 33% и 50% соответственно по сравнению с пациентами, которые не принимали препараты этой группы. Имеются данные, что различные НПВП по-разному повышают риск развития ФП, эторикоксиб показал худший результат в отношении риска развития ФП, напроксен и диклофенак – средний и целекоксиб и ибупрофен – хороший.

НПВП и коксибы могут вызывать зависимое от дозы и возраста пациентов развитие новых случаев ХСН. Риск госпитализации с ХСН увеличился при приеме 7 традиционных НПВП (диклофенак, ибупрофен, индометацин, кеторолак, напроксен, нимесулид и пироксикам) и 2-х ингибиторов ЦОГ-2 (эторикоксиб и рофекоксиб). Наименьший риск развития ХСН был отмечен для напроксена и целекоксиба, наибольший – для кеторолака, индометацина, эторикоксиба и диклофенака.

Риски развития ИМ были сопряжены с дозировкой НПВП, продолжительностью применения и селективностью. Высокие дозы диклофенака и ибупрофена сопоставимы с коксибами по рискам развития ИМ, тогда как высокие дозы напроксена связаны с меньшим сосудистым риском, чем другие НПВП. Исследование показало, что риск ИМ, в целом, увеличивался при приеме коксибов и диклофенака, наилучший результат показал напроксен и средний – ибупрофен.

Как показали исследования, риск развития инсульта был высоким при приеме НПВП в целом. И в частности усиливался и был связан с приемом высоких доз, длительным периодом использования НПВП, а также было показано, что риск развития инсульта увеличивается при наличии сопутствующих заболеваний, таких как

СД, заболевание почек, дислипидемия и т.д. Риск развития инсульта в наибольшей степени увеличивали такие НПВП, как диклофенак, ацеклофенак, индометацин, кеторолак, в наименьшей – мелоксикам, напроксен и кетопрофен и средний результат показал ибупрофен.

Таким образом, проведенный анализ клинических исследований позволяет сделать вывод, что все НПВП повышают риски ССО в зависимости от дозы, возраста, длительности приема, сопутствующих заболеваний и селективности, что ухудшает прогноз для ССР у пациентов различных групп и для различных препаратов. В целом, в большинстве рассмотренных исследований целекоксиб и напроксен продемонстрировали способность в меньшей степени увеличивать ССР и развитие ССО, диклофенак, эторикоксиб, индометацин и кеторолак – наибольшую и ибупрофен – промежуточную, но стоит отметить, что такая градация НПВП носит относительный обобщенный характер и зависит от типа ССР. Полученные данные соответствуют клиническим рекомендациям по рациональному использованию НПВП [52].

Поэтому при назначении любого НПВП у пациента с ССР необходимы тщательная оценка показаний и противопоказаний к применению, мониторинг НР, при необходимости корректировать дозы и учитывать длительность терапии НПВП.

Учитывая проанализированные данные, необходимо дальнейшее изучение влияния НПВП на ССР, в том числе с учетом неизбежного взаимодействия этой группы ЛС с препаратами для лечения ССЗ.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Сулейманова С.В. – концепция работы, анализ и обобщение данных литературы, написание текста рукописи, формулировка выводов; Абакаров М.Г. – концепция работы, редактирование текста, участие в формулировке выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Varga Z., Sabzwari S.R.A., Vargova V. Cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an under-recognized public health issue. *Cureus*. 2017;8(9(4):e1144. DOI: 10.7759/cureus.1144.
2. Franceschi M., Scarcelli C., Niro V., Seripa D., Paziienza A.M., Pepe G., Colusso A.M., Pacilli L., et al. Prevalence, clinical features and avoidability of adverse drug reactions as cause of admission to a geriatric unit: A prospective study of 1756 patients. *Drug Saf*. 2008;31(6):545–556. DOI: 10.2165/00002018-200831060-00009.
3. Singh B.K., Haque S.E., Pillai K.K. Assessment of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced cardiotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2014;10(2):143–156. DOI: 10.1517/17425255.2014.856881.
4. Minhas D., Nidhaan A., Husni M.E. Recommendations for the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular disease risk: decades later, any new lessons learned? *Rheum Dis Clin North Am*. 2023;49(1):179–191. DOI: 10.1016/j.rdc.2022.08.006.
5. Blobaum A.L., Marnett L.J. Structural and functional basis of cyclooxygenase. *J. Med. Chem*. 2007;50(7):1425–1450. DOI: 10.1021/jm0613166.
6. Baron J.A., Sandler R.S., Bresalier R.S., Lanus A., Morton D.G., Riddell R., Iverson E.R., Demets D.L. Cardiovascular events associated with rofecoxib: final analysis of the APPROVe trial. *Lancet*. 2008;372(9651):1756–1764. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61490-7.
7. Murata T., Ushikubi F., Matsuoka T., Hirata M., Yamasaki A., Sugimoto Y., Ichikawa A., Aze Y., et al. Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature*. 1997;388(6643):678–682. DOI: 10.1038/41780.
8. Шостак Н.А., Клименко А.А., Демидова Н.А., Аничков Д.А. Безопасность селективных нестероидных противовоспалительных препаратов: анализ данных последних лет. *Клиницист*. 2020;14(1–2):91–99 [Shostak N.A., Klimenko A.A., Demidova N.A., Anichkov D.A. Safety of selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: analysis of the last years data. *Klinicist*. 2020;14(1–2):91–99 (in Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8338-2020-14-1-2-91-99. EDN: OQFTTR.
9. Hörl W.H. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the kidney. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2010;21(3(7):2291–2321. DOI: 10.3390/ph3072291.
10. Mitchell J.A., Kirkby N.S. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*. 2019;176(8):1038–1050. DOI: 10.1111/bph.14167.
11. Cabassi A., Tedeschi S., Perlini S., Verzicco I., Volpi R., Gonzi G., Del Canale S. Non-steroidal anti-inflammatory drug effects on renal and cardiovascular function: from physiology to clinical practice. *European Journal of Preventive Cardiology*, 2020;27(8):850–867. DOI: 10.1177/2047487319848105.
12. Narumiya S., FitzGerald G.A. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest*. 2001;108(1):25–30. DOI: 10.1172/JCI13455.
13. Fanelli A., Ghisi D., Aprile P.L., Lapi F. Cardiovascular and cerebrovascular risk with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase 2 inhibitors: Latest evidence and clinical implications. *Ther Adv Drug Saf*. 2017;8(6):173–182. DOI: 10.1177/2042098617690485.
14. Ghosh R., Alajbegovic A., Gomes A.V. NSAIDs and cardiovascular diseases: Role of reactive oxygen species. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:5369. DOI: 10.1155/2015/536962.
15. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: a current perspective. *Biochemical Pharmacology*. 2020;180:114147. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.114147.

16. Klomjit N., Ungprasert P. Acute kidney injury associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur J Intern Med.* 2022;101:21–28. DOI: 10.1016/j.ejim.2022.05.003.
17. Patrono C., Dunn M.J. The clinical significance of inhibition of renal prostaglandin synthesis. *Kidney Int.* 1987;32(1):1–12. DOI: 10.1038/ki.1987.164.
18. Lafrance J.P., Miller D.R. Dispensed selective and nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of moderate to severe hyperkalemia: A nested case-control study. *Am J Kidney Dis.* 2012;60(1):82–89. DOI: 10.1053/j.ajkd.2012.02.328.
19. Каратеев А.Е. Дестабилизация артериальной гипертензии как осложнение терапии нестероидными противовоспалительными препаратами: значение проблемы. *Современная ревматология.* 2018;12(2): 64–72 [Karateev A.E. Destabilized hypertension as a complication of therapy with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: the importance of the problem. *Sovremennaya revmatologiya.* 2018;12(2):64–72 (in Russ.)]. DOI: 10/14412/1996-7012-2018-2-64-72. EDN: XPPNNR.
20. Snowden S., Nelson R. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on blood pressure in hypertensive patients. *Cardiol Rev.* 2011;19(4):184–191. DOI: 10.1097/CRD.0b013e31821ddcf4.
21. Walker C., Biasucci L.M. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs revisited. *Postgrad Med.* 2018;130(1):55–71. DOI: 10.1080/00325481.2018.1412799.
22. Floor-Schreuder A., De Smet P.A., Buurma H., Kramers C., Tromp P.C., Belitser S.V., Bouvy M.L. NSAID-antihypertensive drug interactions: Which outpatients are at risk for a rise in systolic blood pressure? *Eur J Prev Cardiol.* 2015;22(1):91–99. DOI: 10.1177/2047487313505243.
23. Ishiguro C., Fujita T., Omori T., Fujii Y., Mayama T., Sato T. Assessing the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on antihypertensive drug therapy using post-marketing surveillance database. *J Epidemiol.* 2008;18(3):119–124. DOI: 10.2188/jea.je2007413.
24. Муратов К.М., Ших Е.В., Липидус Н.И., Сизова Ж.М. Артериальная гипертензия и нестероидные противовоспалительные препараты: тактика ведения пациентов с учетом взаимодействия лекарственных средств. *Медицинский совет.* 2021;(4):258–264 [Muratov K.M., Shih E.V., Lapidus N.I., Sizova Z.M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and arterial hypertension: drug interaction-adjusted management of patients. *Meditsinskiy sovet.* 2021;(4):258–264 (in Russ.)]. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-4-258-264. EDN: GLZBQR.
25. Mitchell J.A., Kirkby N.S. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol.* 2019;176(8):1038–1050. DOI: 10.1111/bph.14167.
26. Ruschitzka F., Borer J.S., Krum H., Flammer A.J., Yeomans N.D., Libby P., Lüscher T.F., Solomon D.H., et al. Differential blood pressure effects of ibuprofen, naproxen, and celecoxib in patients with arthritis: The PRECISION-ABPM (Prospective Randomized Evaluation of Celecoxib Integrated Safety Versus Ibuprofen or Naproxen Ambulatory Blood Pressure Measurement) Trial. *Eur Heart J.* 2017;21;38(44):3282–3292. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx508.
27. Liew J.W., Ward M.M., Reveille J.D., Weisman M., Brown M.A., Lee M., Rahbar M., Heckbert S.R., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and association with incident hypertension in ankylosing spondylitis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2020;72(11):1645–1652. DOI: 10.1002/acr.24070.
28. Wang K., Li X. Comparison of cardiorenal safety of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of arthritis: a network meta-analysis. *Ann Transl Med.* 2022;10(24):1388. DOI: 10.21037/atm-22-6181.
29. Schmidt M., Christiansen C.F., Mehnert F., Rothman K.J., Sørensen H.T. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of atrial fibrillation or flutter: Population based case-control study. *BMJ.* 2011;4:343:d3450. DOI: 10.1136/bmj.d3450.
30. Chao T.F., Liu C.J., Chen S.J., Wang K.L., Lin Y.J., Chang S.L., Lo L.W., Hu Y.F., et al. The association between the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and atrial fibrillation: A nationwide case-control study. *Int J Cardiol.* 2013;20;168(1):312–316. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.058.
31. Bäck M., Yin L., Ingelsson E. Cyclooxygenase-2 inhibitors and cardiovascular risk in a nation-wide cohort study after the withdrawal of rofecoxib. *Eur Heart J.* 2012;33(15):1928–1933. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr421.
32. Schjerning O.A., Fosbøl E.L., Pallisgaard J., Lindhardsen J., Hansen M.L., Køber L., Hansen P.R., Torp-Pedersen C., Gislason G.H. NSAIDs are associated with increased risk of atrial fibrillation in patients with prior myocardial infarction: A nationwide study. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2015;33(15):1928–1933. DOI: 10.1093/ehjcvp/pvv004.
33. Liu G., Yan Y.P., Zheng X.X., Xu Y.L., Lu J., Hui R.T., Huang X.H. Meta-analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drug use and risk of atrial fibrillation. *Am J Cardiol.* 2014;15;114(10):1523–1529. DOI: 10.1016/j.amjcard.2014.08.015.
34. Bäck M., Yin L., Ingelsson E. Cyclooxygenase-2 inhibitors and cardiovascular risk in a nation-wide cohort study after the withdrawal of rofecoxib. *Eur Heart J.* 2012;33(15):1928–1933. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr421.
35. Chokesuwattanaskul R., Chiengthong K., Thongprayoon C., Lertjitbanjong P., Bathini T., Ungprasert P., Cato L.D., Mao M.A., Cheungpasitporn W. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of atrial fibrillation: a meta-analysis. *QJM.* 2020;1;113(2):79–85. DOI: 10.1093/qjmed/hcz307.
36. Krijthe B.P., Heeringa J., Hofman A., Franco O.H., Stricker B.H. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of atrial fibrillation: A population-based follow-up study. *BMJ Open.* 2014;8;4(4):e004059. DOI: 10.1136/bmjopen-2013-004059.
37. Whelton A. Renal aspects of treatment with conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs versus cyclooxygenase-2 specific inhibitors. *Am J Med.* 2001;110:33–42S. DOI: 10.1016/s0002-9343(00)00699-9.
38. Xu Y., Li W., Han Y., Liu H., Zhang S., Yan J., Sun J., Liu Y., et al. Regulatory effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cardiac ion channels Nav1.5 and Kv11.1. *Chem Biol Interact.* 2021;1:338:109425. DOI: 10.1016/j.cbi.2021.109425.
39. Holt A., Strange J.E., Nouhravesh N., Nielsen S.K., Malik M.E., Schjerning A.M., Køber L., Torp-Pedersen C. et al. Heart failure following anti-inflammatory medications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2023;18;81(15):1459–1470.

- DOI: 10.1016/j.jacc.2023.02.027.
40. Bhalal N., Emberson J., Merhi A., Abramson S., Arber N., Baron J.A., Bombardier C., Cannon C., et al. Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomized trials. *Lancet*. 2013;382(9894):769–779. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60900-9.
 41. Arfè A., Scotti L., Varas-Lorenzo C., Nicotra F., Zambon A., Kollhorst B., Schink T., Garbe E., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of heart failure in four European countries: nested case-control study. *BMJ*. 2016;28:354:i4857. DOI: 10.1136/bmj.i4857.
 42. Тарловская Е.И., Михайлова Ю.В. Хроническая сердечная недостаточность и частота приема нестероидных противовоспалительных средств: возможные риски по данным локального регистра. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(1):3677 [Tarlovskaya E.I., Mihajlova Y.V. Chronic heart failure and the frequency of taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a register-based study on the possible risks. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(1):3677 (in Russ.)]. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-1-3677. EDN: DKMKXA.
 43. Curtis E., Fuggle N., Shaw S., Spooner L., Ntani G., Parsons C., Corp N., Honvo G., et al. Safety of cyclooxygenase-2 inhibitors in osteoarthritis: outcomes of a systematic review and meta-analysis. *Drugs Aging*. 2019;36(1):25–44. DOI: 10.1007/s40266-019-00664-x.
 44. Holt A., Strange J., Nouhravesh N., Kinnberg N., Elmegaard M., Schjerning A., Køber L., et al. Heart failure following anti-inflammatory medications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2023;81(15):1459–1470. DOI: 10.1016/j.jacc.2023.02.027.
 45. Bech-Drewes A., Bonnesen K., Hauge E.M., Schmidt M. Cardiovascular safety of using non-steroidal anti-inflammatory drugs for gout: a Danish nationwide case-crossover study. *Rheumatol Int*. 2024;44(6):1061–1069. DOI: 10.1007/s00296-024-05584-7.
 46. Grimaldi-Bensouda L., Rossignol M., Danchin N., Steg P., Bessedè G., Ovize M., Cottin Y., Autret-Leca E., et al. Risk of ST versus non-ST elevation myocardial infarction associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Multicenter Study Heart*. 2011;97(22):1834–1840. DOI: 10.1136/hrt.2011.222448.
 47. Gaster N., Pedersen L., Ehrenstein V., Böttcher M., Bøtker H.E., Sørensen H.T., Schmidt M. Cardiovascular risks associated with use of non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with non-obstructive coronary artery disease. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*. 2022;5;8(3):282–290. DOI: 10.1093/ehjcvp/pvab082.
 48. García-Poza P., Abajo F.J., Gil M.J., Chacón A., Bryant V., García-Rodríguez L.A. Risk of ischemic stroke associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol: a population-based case-control study. *J Thromb Haemost*. 2015;13(5):708–718. DOI: 10.1111/jth.12855.
 49. Ungprasert P., Matteson E.L., Thongprayoon C. Nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of hemorrhagic stroke: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Stroke*. 2016;47(2):356–364. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.011678.
 50. Schink T., Kollhorst B., Lorenzo C.V., Arfè A., Herings R., Lucchi S., Romio S., Schade R., et al. Risk of ischemic stroke and the use of individual non-steroidal anti-inflammatory drugs: a multi-country European database study within the SOS Project. *PLoS One*. 2018;19;13(9):e0203362. DOI: 10.1371/journal.pone.0203362.
 51. Jo H.A., Kim D.K., Park S., Kim Y., Han S.S., Yang B.R., Choi S.H., Kim M.S., et al. Cardiovascular risk of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dialysis patients: a nationwide population-based study. *Nephrol Dial Transplant*. 2021;26;36(5):909–917. DOI: 10.1093/ndt/gfz276.
 52. Каратеев А.Е., Насонов Е.Л., Ивашкин В.Т., Мартынов А.И., Яхно Н.Н., Арутюнов Г.П., Алексеева Л.И., Абузарова Г.Р. и др. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. *Научно-практическая ревматология*. 2018;56:1–29 [Karateev A.E., Nasonov E.L., Ivashkin V.T., Martynov A.I., Yakhno N.N., Arutyunov G.P., Alekseeva L.I., Abuzarova G.R., et al. Rational use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Clinical guidelines. *Rheumatology Science and Practice*. 2018;56:1–29 (in Russ.)]. DOI: 10.14412/1995-4484-2018-1-29. EDN: YNMORN.

Поступила в редакцию 29.08.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Сулейманова С.В., Абакаров М.Г. Нестероидные противовоспалительные препараты и сердечно-сосудистый риск: обзор. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):39–49. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/04. EDN: HTVHKK.

NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS AND CARDIOVASCULAR RISK: A REVIEW

© Suleimanova S.V., Abakarov M.G.

Dagestan State Medical University (DGMU)

1, Lenin Sq., Makhachkala, Republic of Dagestan, 367000, Russian Federation

Objective – to summarize the results of clinical studies on the safety of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, which provide information on the mechanisms of development of adverse reactions accompanied by an increased risk of developing cardiovascular diseases and complications.

Materials and methods. A literature review of the PubMed database was conducted, reflecting the connection between the risk of developing cardiovascular diseases, in particular, arterial hypertension, heart rhythm disturbances, chronic heart failure, as well as the risk of serious cardiovascular complications: myocardial infarction and stroke with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

Results. NSAIDs are one of the most frequently prescribed groups of drugs and are associated with the development of adverse reactions, including severe complications from the cardiovascular system, which is relevant for improving the safety of therapy. The effect of NSAIDs on the cardiovascular system is mediated through thromboxane A₂, prostacyclin (PGI₂) and prostanoids formed under the influence of cyclooxygenases 1 and 2 (COX-1 and COX-2), respectively. Thromboxane A₂ has a powerful vasoconstrictor and proaggregant effects, PGI₂ and prostaglandin (PGE₂) have the opposite effect. The use of NSAIDs can cause an imbalance between them, increasing the risk of cardiovascular diseases. NSAIDs cause an increase in blood pressure due to mechanisms associated with inhibition of PGI₂, insignificant in normotensive patients and up to 14 mm Hg. in patients with arterial hypertension, and, in addition, reduce the effectiveness of antihypertensive drugs. Taking NSAIDs leads to disorders in the form of decreased natriuresis, hyperkalemia, an increase in the volume of circulating blood, which can cause heart rhythm disturbances, the development of myocardial infarction, stroke and chronic heart failure (to a greater extent - selective COX-2 inhibitors than non-selective NSAIDs).

Conclusion. Prescribing NSAIDs to patients with cardiovascular pathology requires careful consideration of indications and contraindications, monitoring the development of adverse reactions, and choosing a specific drug and/or dosage regimen.

Keywords: nonsteroidal anti-inflammatory drugs; cyclooxygenase inhibitors; cardiovascular risk; adverse reactions; chronic heart failure; arterial hypertension; atrial fibrillation; myocardial infarction; stroke.

Suleimanova Saida V. – Assistant Lecturer at the Department of clinical pharmacology, DSMU, Makhachkala, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0009-3901-8578. E-mail: suleimanova.saida2015@yandex.ru (corresponding author)

Abakarov Magomed G. – Dr. Sci. (Med.), Associated Professor, Head of Department of clinical pharmacology, DSMU, Makhachkala, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0006-6397-4584. E-mail: avicenna61@mail.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 authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Suleimanova Saida V. – conceptualised the study, drafted the manuscript, design of the manuscript, formulated the conclusions, analysis and generalization of literature data. Abakarov Magomed G. – conceptualised the study, editing of the text, participation in the formulation of conclusions, approval of the final version of the manuscript for publication.

Received 29.08.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Suleimanova S.V., Abakarov M.G. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk: a review. *Humans and their health*. 2024;27(4):39–49. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/04. EDN: HTVHKK.

ЦИСТАТИН С КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ КОЖИ

© Коновалова А.А., Цепелев В.Л.

Читинская государственная медицинская академия (ЧГМА)

Россия, 672000, Забайкальский край, г. Чита, ул. Горького, д. 39 «а»

Цель – оценить динамику изменения уровня биомаркера острого повреждения почек – цистатина С в сыворотке крови и в моче у больных с термическими ожогами кожи.

Материалы и методы. В исследование включены 74 пациента с термическими ожогами кожи I-III степени с площадью поражения кожных покровов более 25%, из них не менее 15% глубокого ожога. Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводили кинетическим методом Яффе. Исследование концентрации цистатина С проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре.

Результаты. Установлено, что концентрация цистатина С в сыворотке крови в период ожогового шока увеличивается в 1,9 раза, при ожоговой токсемии и септикотоксемии – в 1,5 раза по отношению к группе контроля. В моче данный показатель в период ожогового шока увеличивается в 17,4 раза, при ожоговой токсемии – 17,1 раза и септикотоксемии – в 15,8 раза по отношению к группе контроля.

Заключение. Цистатин С в сыворотке крови и в моче можно рассматривать как ранний биомаркер острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

Ключевые слова: термический ожог; острое повреждение почек; цистатин С.

Коновалова Алина Анатольевна – ассистент кафедры госпитальной хирургии с курсом детской хирургии, ЧГМА, г. Чита. ORCID iD: 0009-0007-2565-0359. E-mail: kuzmina-aa@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

Цепелев Виктор Львович – д-р мед. н., профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии с курсом детской хирургии, ЧГМА, г. Чита. ORCID iD: 0000-0002-2166-5154.

Острое повреждение почек (ОПП) является одним из наиболее распространенных осложнений у пациентов с термическими ожогами кожи в критическом состоянии [1]. Частота почечного повреждения составляет до 20% и повышается при увеличении площади повреждения кожных покровов [1, 2]. В клинической практике диагностика ОПП основывается на снижении скорости клубочковой фильтрации (СКФ), которая зависит от повышения концентрации сывороточного креатинина. При этом стоит отметить, что имеются ограничения в использовании креатинина как показателя для диагностики ОПП [3]. Концентрация креатинина начинает возрастать при снижении СКФ на 30-40% от исходного уровня, а гистологически – это гибель более 50% нефронов [4]. Возраст, пол, раса, вес, рост, применение лекарственных препаратов – все это может влиять на тенденцию изменения уровня креатинина в сыворотке крови. У пациентов с термическими ожогами кожи факторов изменения уровня креатинина больше в связи с проведением инфузионной, гормональной терапии, стадийным течением ожоговой болезни, присоединением вторичной микробной флоры [5]. В связи с этим необходим поиск нового биомаркера ОПП, который может выявить субклиническую форму острого повреждения почек и отразить динамику состояния почечной паренхимы при разных стадиях течения ожоговой болезни [6].

В качестве раннего предиктора ОПП был предложен цистатин С [7]. Данный биомаркер

представляет собой белок, который синтезируется всеми ядродержащими клетками организма, он беспрепятственно фильтруется в клубочках за счет своей небольшой массы 13кД, полностью реабсорбируется в проксимальных извитых канальцах без попадания в системный кровоток, за счет чего практически отсутствует в моче у здоровых людей [9]. Кроме того, важной особенностью является то, что данное вещество не секретировано канальцами самой почки. Биологические свойства данного белка позволяют выявлять поражение почки в ранние сроки. При этом имеются данные о том, что при снижении числа нефронов и прогрессировании патологии почек концентрация цистатина С возрастает [10].

Данный биомаркер детально изучен при хронических заболеваниях почек. Между тем цистатин С, как критерий ОПП, недостаточно изучен при ожоговой болезни [8].

Целью исследования являлось оценить динамику изменения уровня цистатина С в сыворотке крови и моче у пациентов с тяжелыми термическими ожогами кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под нашим наблюдением находились 74 пациента с термическими ожогами кожи I-III степени с площадью поражения кожных покровов от 25% до 85%, из них не менее 15% глубокого

ожога, которые получали лечение в ГУЗ «Краевая клиническая больница» и ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы в период с 2021 по 2024 гг. Возраст пациентов с термическими поражениями кожи составил 42 (21; 53,5) лет; из них 47 (63,5%) мужчин и 27 (36,5%) женщин, площадь поражения кожи – 33 (30; 45)% поверхности тела, уровень смертности – 45,9%. Группу сравнения составили 35 здоровых людей, возраст которых 36 (28; 53) лет, в соотношении 60% (21) мужчин, 40% (14) женщин. Все пациенты были проинформированы о проведении исследования, получены добровольные информированные согласия. Критерии исключения: хроническая болезнь почек, хронические заболевания почек (амилоидоз почек, гипертоническая нефропатия, тубуло-интерстициальный нефрит, стеноз почечной артерии, подагрическая нефропатия, артериальная гипертензия, гломерулонефрит, гидронефроз, мочекаменная болезнь), больные сахарным диабетом, возраст старше 70 и младше 15 лет, наличие онкологических заболеваний.

Исследование уровня цистатина С в сыворотке крови и моче проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре CytoFlex LX (Beckman Coulter, США) с использованием наборов Human Kidney Function Panel 1 Mix and Match Subpanel (For Urine Sample) (BioLegend, США). Анализ выполняли в программе BioLegend's LEGENDplex™ data analysis software v8.0 (BioLegend, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводили кинетическим методом Яффе с пикриновой кислотой на аппарате AU-680. Подсчет СКФ проводили формулой Кокрофта-Голта.

Определение указанных параметров проводили в период ожогового шока (1-3-е сутки); ожоговой токсемии (7-10-е сутки), ожоговой септикотоксемии (18-21-е сутки) после получения термической травмы. Дополнительно в период ожогового шока уровень креатинина был измерен дважды: при поступлении и спустя 48 часов. Уровень данных показателей был определен и у здоровых лиц однократно.

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, USA). Нормальность распределения количественных признаков, оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Учетываемая распределение признаков отличное от нормального во всех исследуемых группах, статистическую обработку полученных данных проводили непараметрическим методом Манна-Уитни с учетом поправки Бонферрони для сравнения исследуемой группы с группой контроля. Для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой использовали стандарти-

зированную оценку Z-score [11]. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока [12]. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов с термической травмой при поступлении в стационар концентрация креатинина превышала данный показатель группы контроля на 28% ($p < 0,001$), через 48 часов отмечали увеличение концентрации креатинина на 79% ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля и на 40% ($p < 0,001$) по отношению к исходным данным при поступлении пациентов с термической травмой. В период ожоговой токсемии и септикотоксемии уровень креатинина снижался по сравнению с максимальным показателем в период ожогового шока на 36% и на 39% ($p < 0,001$) соответственно (табл. 1).

При расчете скорости клубочковой фильтрации выявлено, что в первые сутки после получения термического ожога кожи данный показатель был ниже в 1,3 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). При динамическом наблюдении на 2-3-е сутки после получения травмы, СКФ снижалась в 2 раза при сравнении с группой контроля ($p < 0,001$), а также в 1,6 раза по отношению к исходным данным, полученным в 1-е сутки после термической травмы ($p < 0,001$). При дальнейшем наблюдении в период ожоговой токсемии и септикотоксемии уровень СКФ возрастал, но не достигал значения группы контроля (табл. 1).

Также в наших исследованиях был оценен уровень диуреза. Выявлено, что у больных с термическими ожогами кожи в период ожогового шока уровень диуреза снижался до 400 (350; 512) мл ($U=0$; $p < 0,001$), в группе здоровых людей объем суточной мочи составил 2000 (1950; 2100) мл. В период острой ожоговой токсемии и септикотоксемии суточное количество мочи увеличивалось, хотя и не достигало значений контрольной группы. Так, в период ожоговой токсемии уровень диуреза составил 1450 (1200; 2000) мл, что на 27,5% меньше, чем в группе контроля ($U=508$, $p_{к-2} < 0,001$). В период ожоговой септикотоксемии суточное количество мочи составило 1700 (1150; 2000) мл, что на 15% меньше, чем в группе контроля ($U=531$, $p=0,009$).

Установлено, что уровень цистатина С в крови увеличивался в период ожогового шока в 1,9 раза при сравнении с группой контроля ($p < 0,001$). В период ожоговой токсемии и септикотоксемии концентрация цистатина С увеличивалась в 1,5 раза ($p < 0,001$) по отношению

Уровень креатинина и СКФ у больных с термическими ожогами кожи

Creatinine and GFR levels in patients with thermal skin burns

Показатель Indicator	Группа контро- ля Control Group (n=35)	Больные с термическим ожогом кожи Patients with thermal skin burn				Тестовая статистика Test statistics	
		Ожоговый шок Burn shock		Ожоговая токсемия (7-10-е сут.) Burn toxemia (7-10 days) (n=68)	Ожоговая септико- токсемия (18-21-е сут.) Burn septic toxemia (18-21 days) (n=60)	Манна- Уитни Mann- Whitney	Z-score
		Первые сутки после травмы The first day after the injury (n=74)	2-3-и сутки после травмы 2-3 days after injury (n=74)				
к	1	1.1	2	3			
Креатинин, мкмоль/л Creatinine mmol/l	75 (71; 77)	96 (85; 103)	134 (124; 147)	86 (81; 90)	82 (74; 83)	U _{K-1} =297 p _{K-1} <0.001 U _{K-1.1} =34 p _{K-1.1} <0.001 U _{K-2} =322 p _{K-2} <0.001 U _{K-3} =580 p _{K-3} <0.001	Z _{1-1.1} =-7.1 p _{1-1.1} <0.001 Z ₁₋₂ =-4.8 p ₁₋₂ <0.001 Z ₁₋₃ =-5.7 p ₁₋₃ <0.001 Z _{1.1-2} =-7.0 p _{1.1-2} <0.001 Z _{1.1-3} =-6.7 p _{1.1-3} <0.001 Z ₂₋₃ =-4.6 p ₂₋₃ =0.08
СКФ, мл/мин GFR ml/min	103 (93;112)	81 (67; 94)	51.5 (40; 64)	90 (75; 107)	99 (88; 115)	U _{K-1} =426 p _{K-1} <0.001 U _{K-1.1} =25 p _{K-1.1} <0.001 U _{K-2} =742 p _{K-2} =0.002 U _{K-3} =922 p _{K-3} =0.5	Z _{1-1.1} =-6.9 p _{1-1.1} <0.001 Z ₁₋₂ =-4.6 p ₁₋₂ <0.001 Z ₁₋₃ =-5.8 p ₁₋₃ <0.001 Z _{1.1-2} =-7.0 p _{1.1-2} <0.001 Z _{1.1-3} =-6.6 p _{1.1-3} <0.001 Z ₂₋₃ =-5.4 p ₂₋₃ =0.7

Примечание: критерий Манна-Уитни использовался для сравнения исследуемой группы с группой контроля; Z-score – для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой.

Note: The Mann-Whitney criteria were used to compare the study group with the control group; the Z-score was used to compare the periods of burn disease in pairs with each other.

к группе контроля (табл. 2). Следует отметить, что при ожоговой токсемии и септикотоксемии происходит снижение уровня данного показателя, хотя его значения не достигают группы контроля (табл. 2).

При оценке концентрации цистатина С в моче у больных с термическими ожогами кожи в период шока отмечено увеличение показателя в 17,4 раза по отношению к группе контроля (p<0,001). В период ожоговой токсемии уровень цистатина С был выше в 17,1 раза (p<0,001), а в период септикотоксемии данный показатель оставался на высоком уровне и пре-

вышал контрольные значения в 15,8 раза (p<0,001) (табл. 2).

При анализе корреляции Спирмана скорость клубочковой фильтрации и уровень цистатина С в сыворотке крови имеет обратную заметную корреляционную связь (r_s=-0,6; p<0,001) в период ожогового шока и ожоговой септикотоксемии, а в период токсемии отмечается обратная высокая корреляционная взаимосвязь (r_s=-0,7; p<0,001).

Концентрация цистатина С у больных с термическими ожогами кожи

The concentration of cystatin C in patients with thermal skin burns

Биомаркер Biomarker	Группа контроля Control Group (n=35)	Больные с термической травмой Patients with thermal injury			Тестовая статистика Test statistics	
		Ожоговый шок (1-3-и сут.) Burn shock (1-3 days) (n=74)	Ожоговая токсемия (7-10-е сут.) Burn toxemia (7-10 days) (n=68)	Ожоговая септико- токсемия (18-21-е сут.) Burn septic toxemia (18-21 days) (n=60)	Манна- Уитни Mann-Whitney	Z-score
к	1	2	3			
Цистатин С (в крови), нг/мл Cystatin C (in blood), ng/ml	745 (635; 985)	1388 (1029; 3120)	1156 (858; 1969)	1102 (845; 1289)	U _{к-1} =218 p _{к-1} <0.001 U _{к-2} =300 p _{к-2} <0.001 U _{к-3} =481 p _{к-3} <0.001	Z ₁₋₂ =-3.2 p ₁₋₂ <0.001 Z ₁₋₃ =-5.2 p ₁₋₃ <0.001 Z ₂₋₃ =-4.4 p ₂₋₃ <0.001
Цистатин С (в моче), нг/мл Cystatin C (in urine), ng/ml	75 (35; 97)	1307 (1177; 1499)	1284 (1163; 1435)	1189 (1082; 1270)	U _{к-1} =28 p _{к-1} <0.001 U _{к-2} =25 p _{к-2} <0.001 U _{к-3} =108 p _{к-3} <0.001	Z ₁₋₂ =-2.7 p ₁₋₂ =0.007 Z ₁₋₃ =-3.8 p ₁₋₃ <0.001 Z ₂₋₃ =-3.6. p ₂₋₃ =0.002

Примечание: критерий Манна-Уитни использовался для сравнения исследуемой группы с группой контроля; Z-score – для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой.

Note: The Mann-Whitney criteria were used to compare the study group with the control group; the Z-score was used to compare the periods of burn disease in pairs with each other.

Также выявлено, что скорость клубочковой фильтрации и концентрация цистатина С в моче имеет обратную высокую корреляционную связь ($r_s=-0,8$; $p<0,001$) в период ожогового шока, умеренную обратную связь в период ожоговой токсемии ($r_s=-0,4$; $p=0,003$) и заметную обратную связь ($r_s=-0,5$; $p<0,001$) при ожоговой септикотоксемии.

Около 30% больных с термическими ожогами кожи имеют острое повреждение почек. Вероятность развития ОПП возрастает при увеличении глубины и площади поражения кожных покровов. Острое повреждение почек является одной из причин летального исхода у больных с тяжелыми ожогами [2]. В настоящее время известно, что общепринятые критерии диагностики, такие как суточный диурез, СКФ, уровень креатинина в сыворотке крови, могут не отражать картину ОПП и не позволяют диагностировать патологию в ранние сроки [4]. Наши исследования подтверждают эти данные, где мы отмечаем повышения уровня креатинина на 2-3-и сутки после получения термической травмы, а в период ожоговой токсемии и септи-

котоксемии значения находятся в пределах нормы. Соответственно, необходим поиск новых биомаркеров ОПП. Один из таких эндогенных маркеров – цистатин С, который изучался при хронической болезни почек, сахарном диабете, хронической обструктивной болезни легких [13, 14]. Данных об изучении цистатина С при термических ожогах кожи недостаточно, а показатель в разные периоды ожоговой болезни не изучался [15, 16].

Интерес к цистатину С, как биомаркеру ОПП, обусловлен такими свойствами как: постоянная скорость синтеза, свободная фильтрация в клубочках почки, реабсорбцией клетками проксимальных канальцев и катаболизацией эпителиальными клетками почки, и не зависит от других факторов, в том числе от изменений мышечной массы, что важно в аспекте изучения ожоговой болезни [17, 18].

В нашем исследовании уровень цистатина С в сыворотке крови был увеличен во все периоды ожоговой болезни, с максимальным показателем в период ожогового шока. Цистатин С мочи был еще более показательный, так как выявля-

ны десятикратные увеличения концентрации при течении ожоговой болезни во все периоды.

Мы обнаружили корреляционные взаимосвязи цистатина С и СКФ во все периоды ожоговой болезни, следовательно, цистатин С в полной мере отражает функцию почек, что позволяет выявить ОПП при течении ожоговой болезни.

Таким образом, уровень цистатина С увеличивается во все периоды ожоговой болезни, кратные изменения концентрации показателя выявлены в моче. Определена обратная высокая корреляционная связь уровня цистатина С крови и мочи со скоростью клубочковой фильтрации, что отражает возможность использования данного биомаркера, как диагностический критерий острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

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

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено Независимым этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, протокол № 117 от 10.11.2021 г.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Коновалова А.А. – анализ литературы по теме исследования, сбор данных, интерпретация результатов, написание текста научной статьи, анализ и интерпретация данных, статистический анализ, ответственность за целостность всех частей рукописи, составление черновика рукописи; Цепелев В.Л. – разработка концепции и дизайна исследования, научное и техническое редактирование, окончательное утверждение рукописи для публикации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chen B., Zhao J., Zhang Z., Li G., Jiang H., Huang Y., Li X. Clinical characteristics and risk factors for severe burns complicated by early acute kidney injury. *Burns*. 2020;46(5):1100–1106. DOI: 10.1016/j.burns.2019.11.018.
2. Шилова Е.М., Смирнова А.В., Козловская Н.Л. Нефрология. *Клинические рекомендации*. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 856 с. [Shilova E.M., Smirnova A.V., Kozlovskaya N.L. *Nephrology. Clinical recommendations*. Moscow: GEOTAR Media, 2020. 856 p. (in Russ.)]
3. Мальярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Лукьянов С.А., Терешков П.П., Казанцева Л.С. Острое почечное

повреждение у больных пневмониями на фоне гриппа А/Н1N1. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021;6(3):53–59 [Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Lukyanov S.A., Tereshkov P.P., Kazantseva L.S. Acute renal injury in patients with pneumonia against the background of influenza A/H1N1. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021;6(3):53–59 (in Russ.)]. DOI: 10.29413/ABS.2021-6.3.5. EDN: TNAXFN.

4. Khandelwal A., Satariano M., Doshi K., Aggarwal P., Avsarala V., Sood A., Bansal S., Neyra J.A., et al. Management and Outcomes of Acute Kidney Injury due to Burns: A Literature Review. *J Burn Care Res*. 2024;45(2):323–337. DOI: 10.1093/jbcr/irad121.
5. Desai R.J., Kazarov C.L., Wong A., Kane-Gill S.L. Kidney Damage and Stress Biomarkers for Early Identification of Drug-Induced Kidney Injury: A Systematic Review. *Drug Saf*. 2022;45(8):839–852. DOI: 10.1007/s40264-022-01202-2.
6. Benoit S.W., Ciccio E.A., Devarajan P. Cystatin C as a biomarker of chronic kidney disease: latest developments. *Expert Rev Mol Diagn*. 2020;20(10):1019–1026. DOI: 10.1080/14737159.2020.1768849.
7. Корабельников Д.И., Магомедалиев М.О. Современные биомаркеры острого повреждения почек. *Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2023;16(1):87–104 [Korabelnikov D.I., Magomedaliyev M.O. Modern biomarkers of acute kidney injury. *Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya*. 2023;16(1):87–104 (in Russ.)]. DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.171. EDN: IMGXIE.
8. An J.N., Kim J.K., Lee H.S., Kim S.G., Kim H.J., Song Y.R. Serum cystatin C to creatinine ratio is associated with sarcopenia in non-dialysis-dependent chronic kidney disease. *Kidney Res Clin Pract*. 2022;41(5):580–590. DOI: 10.23876/j.krcp.21.214.
9. Haines R.W., Fowler A.J., Liang K., Pearse R.M., Larsson A.O., Puthuchery Z., Prowle J.R. Comparison of Cystatin C and Creatinine in the Assessment of Measured Kidney Function during Critical Illness. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2023;18(8):997–1005. DOI: 10.2215/CJN.000000000000203.
10. Stehlé T., Delanaye P. Which is the best glomerular filtration marker: Creatinine, cystatin C or both? *Eur J Clin Invest*. 2024;54(10):e14278. DOI: 10.1111/eci.14278.
11. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020;(1):140–150 [Mudrov V.A. Statistical analysis algorithms of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian medical bulletin*. 2020;(1):140–150 (in Russ.)]. DOI: 10.52485/19986173_2020_1_140. EDN: NXHHSU.
12. Мудров В.А. Алгоритмы корреляционного анализа данных в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020;(2):169–176 [Mudrov V.A. Algorithms for performing data correlation analysis in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian medical bulletin*. 2020;(2):169–176 (in Russ.)]. DOI: 10.52485/19986173_2020_2_169. EDN: SPBMYO.

13. Visinescu A.M., Rusu E., Cosoreanu A., Radulian G. CYSTATIN C-A Monitoring Perspective of Chronic Kidney Disease in Patients with Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2024;25(15):8135. DOI: 10.3390/ijms25158135.
14. Kawasaki Y., Nishiki K., Nojiri M., Kato R., Shinomiya S., Oikawa T., Ishizaki T., Toga H., et al. Prognostic value of the serum creatinine/cystatin C ratio in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Investig.* 2024;62(1):143–149. DOI: 10.1016/j.resinv.2023.11.007.
15. Legrand M., Clark A.T., Neyra J.A., Ostermann M. Acute kidney injury in patients with burns. *Nat Rev Nephrol.* 2024;20(3):188–200. DOI: 10.1038/s41581-023-00769-y.
16. Chen D.C., Potok O.A., Rifkin D., Estrella M.M. Advantages, Limitations, and Clinical Considerations in Using Cystatin C to Estimate GFR. *Kidney360.* 2022;3(10):1807–1814. DOI: 10.34067/KID.0003202022.
17. Хусаинова М.А. Цистатин С является ранним маркером снижения функции почек. *Восточный ренессанс: инновационные, образовательные, естественные и социальные науки.* 2023;3(1):485–490 [Khusainova M.A. Cystatin C is an early marker of decreased kidney function. *Oriental renaissance: Innovative, educational, natural and social sciences.* 2023;3(1):485–490 (in Russ.)]
18. Linné E., Elfström A., Åkesson A., Fisher J., Grubb A., Pettilä V., Vaara S.T., Linder A., et al. Cystatin C and derived measures of renal function as risk factors for mortality and acute kidney injury in sepsis - A post-hoc analysis of the FINNAKI cohort. *J Crit Care.* 2022;72:154148. DOI: 10.1016/j.jcrc.2022.154148.

Поступила в редакцию 27.10.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Коновалова А.А., Цепелев В.Л. Цистатин С как показатель острого повреждения почек у пациентов с термическими ожогами кожи. *Человек и его здоровье.* 2024;27(3):50–56. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/05. EDN: RBCUFE.

CYSTATIN C AS AN INDICATOR OF ACUTE KIDNEY INJURY IN PATIENTS WITH THERMAL SKIN BURNS

© Konovalova A.A., Tsepelev V.L.

Chita State Medical Academy (CSMA)

39 "a", Gorky Str., Chita, Zabaikalsky Krai, 672000, Russian Federation

Objective – to evaluate the dynamics of changes in the level of the biomarker of acute kidney injury – cystatin C in blood serum and urine in patients with thermal skin burns.

Materials and methods. The study included 74 patients with thermal skin burns of I-III degree with a skin lesion area of more than 25%, of which at least 15% are deep burns. Serum creatinine levels were determined using the kinetic Jaffe method. The concentration of cystatin C was studied by multiplex analysis on a flow cytofluorimeter.

Results. It was found that the concentration of cystatin C in the blood serum during burn shock increases by 1.9 times, with burn toxemia and septicotoxemia - by 1.5 times in relation to the control group. In urine, this indicator increases 17.4 times during burn shock, 17.1 times with burn toxemia and 15.8 times with septicotoxemia relative to the control group.

Conclusion. Cystatin C in serum and urine can be considered as an early biomarker of acute kidney injury in patients with thermal skin burns.

Keywords: thermal burns; acute kidney injury; cystatin C.

Konovalova Alina A. – Assistant Lecturer at the Department of Hospital Surgery with a course in Pediatric Surgery, CSMA, Chita, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0007-2565-0359. E-mail: kuzmina-aa@mail.ru (corresponding author)

Tsepelev Viktor L. – Dr.Sci. (Med.) Professor, Head of the Department of Hospital Surgery with the Course of Pediatric Surgery, CSMA, Chita, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2166-5154

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.

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

The conducted research complies with the standards of the Helsinki Declaration, approved by the Independent Ethics Committee of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Chita State Medical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Protocol No. 117 dated 11/10/2021.

AUTHORS CONTRIBUTION

Konovalova A.A. – literature analysis on the research topic, data collection, interpretation of results, writing the text of a scientific article, data analysis and interpretation, statistical analysis, responsibility for the integrity of all parts of the manuscript, drafting the manuscript; Tsepelev V.L. – development of the concept and design of research, scientific and technical editing, final approval of the manuscript for publication.

Received 27.10.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Konovalova A.A., Tsepelev V.L. Cystatin C as an indicator of acute kidney injury in patients with thermal skin burns. *Humans and their health.* 2024;27(4):50–56. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/05. EDN: RBCUFE.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЛИСТЬЕВ И ПЛОДОВ СУМАХА ПУШИСТОГО (*RHUS TYRHINA L.*) И ИХ РОЛЬ В ПРОЯВЛЕНИИ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

© Попов И.В., Папаяни О.И., Юртаева Е.А., Попова О.И.

Пятигорский медико-фармацевтический институт (ПМФИ) – филиал Волгоградского государственного медицинского университета (ВолгГМУ)

Россия, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

Цель – изучение антибактериальной активности извлечений из листьев и плодов сумаха пушистого.

Материалы и методы. Извлечения листьев и плодов сумаха пушистого, заготовленных в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института, листья – июнь 2023 г.; плоды – конец октября 2022 г. Определение основных групп биологически активных соединений проводили: по методу Фолина-Чокальтеу – дубильные вещества, методом спектрофотометрии – флавоноиды и антоцианы, методом титрования – органические кислоты и аскорбиновая кислота. Для установления антимикробной активности исследуемых извлечений использовали восемь клинических тест-штаммов. Антимикробную активность проводили методом диффузии в агар. Определение чувствительности микроорганизмов к исследуемым извлечениям, используя метод «колодцев».

Результаты. Для листьев сумаха пушистого доминирующими группами биологически активных соединений являются дубильные вещества и флавоноиды. В плодах содержание дубильных веществ меньше, однако отмечается высокое содержание органических кислот и антоцианов. Проведенные скрининговые исследования показали, что полученные извлечения из листьев и плодов сумаха пушистого обладают выраженной антибактериальной активностью. Зоны угнетения роста для всех исследуемых штаммов составили более 10 мм (от 13 мм до 30 мм), что характеризует их активность как высокую.

Заключение. Установлена антимикробная активность в отношении наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. Полученные химико-аналитические и биологические данные позволяют рассматривать извлечения из листьев и плодов сумаха пушистого (*Rhus tyrhina L.*) как потенциальные антимикробные средства.

Ключевые слова: сумах пушистый; анакардиевые; биологически активные соединения; тест-штаммы; антимикробная активность.

Попов Иван Викторович – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0003-5990-0000. E-mail: beegeslover@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

Папаяни Оксана Ивановна – ст. преподаватель кафедры микробиологии и иммунологии, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0001-6645-7263. E-mail: ksuxa011@yandex.ru

Юртаева Екатерина Алексеевна – канд. фарм. наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0002-1639-1881. E-mail: tyrkova.katerina@yandex.ru

Попова Ольга Ивановна – д-р фарм. наук, профессор, профессор кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0001-5610-4588. E-mail: beegeslover@mail.ru

Современный человек живет в тесном контакте с микробами и нередко мирно сосуществует с ними. Вместе с тем имеется большое число микроорганизмов, являющихся «облигатными», или абсолютно патогенными. Известны также условно-патогенные микроорганизмы, которые могут провоцировать заболевания человека в результате снижения иммунитета. Этому способствуют переохлаждение, значительная кровопотеря, соматические заболевания и другие факторы. Возрастанию роли условно-патогенных микроорганизмов в инфекционной патологии способствовало широкое, иногда необоснованное и неправильное использование антибиотиков, спровоцировавшее нарушение баланса между представителями нормальной микрофлоры организма и развития у микроорганизмов устойчивости к антимикробным пре-

паратам [1]. В литературе представлены сведения, что у условно-патогенных микроорганизмов имеется природная и приобретенная устойчивость к антимикробным препаратам, характерная не только для условно-патогенных, но и для «облигатных» микроорганизмов [2-5]. В связи с вышеизложенным очевиден научный интерес и необходимость поиска альтернативных средств для борьбы с инфекциями [6, 7]. Наше внимание привлекли представители рода сумах (*Rhus*) семейства анакардиевые (*Anacardiaceae*), в листьях которых накапливаются дубильные вещества, флавоноиды и другие фенольные соединения, обладающие антимикробной и противовоспалительной активностью [8-10]. Ранее в СССР листья сумаха дубильного (*Rhus coriaria L.*) использовались как промышленный источник танина, так как в них

может накапливаться от 25 до 35% дубильных веществ (танинов). Следует указать, что сумах дубильный не отличается зимостойкостью, основные его места произрастания и культивирования расположены в Закавказье и некоторых районах Средней Азии, защищенных от вторжения холодных ветров [11]. С распадом СССР сырьевая база листьев сумаха дубильного фактически оказалась утрачена. Внедрение в отечественную медицинскую практику ранее не используемых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС), продуктов его переработки, расширение номенклатуры фитопрепаратов требует учитывать современные «омиксные» технологии, включающие метаболомный уровень изучения низкомолекулярных соединений, являющихся продуктами биохимических преобразований [12, 13]. При этом важное значение для получения фитопрепаратов имеет наличие стабильной сырьевой базы. На сегодняшний день единственным видом рода *Rhus*, успешно акклиматизированным в Европейской части России, является сумах пушистый (оленерогий) – *Rhus typhina* L. Это листопадное дерево происходит из восточных областей Северной Америки: от канадской провинции Онтарио до севера Флориды [14, 15]. Сумах пушистый отличается хорошей зимостойкостью, имеет раскидистую крону, несущую множество непарноперисто-сложных листьев. Также растение ежегодно дает достаточную биомассу плодов – костянок, собранных в большие характерные конусовидные соплодия, сохраняющихся на деревьях на протяжении осени и зимы. Растение устойчиво к неблагоприятным воздействиям окружающей среды [16]. Данный вид выращивается в течение нескольких десятилетий в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ). Его можно встретить в парках, скверах, лесных насаждениях (лесополосах) ряда районов Северного Кавказа. Листья и плоды *Rhus typhina*, а также другие части растения используются в народной медицине коренных народов Северной Америки. Их применяют при геморрое, диарее, для лечения язв, фурункулов. Листья в составе курительных смесей – при заболеваниях легких, а плоды (в виде настоя) как тонизирующее, а также очищающее кровь [17-20]. Ранее нами проведены фармакогностические исследования листьев и плодов сумаха пушистого, включающие качественное и количественное определение таких вторичных метаболитов, как дубильные вещества и другие окисляемые продукты, флавоноиды, фенолкарбоновые и органические кислоты [21, 22]. Целью исследования явилось изучение антибактериальной активности извлечений из листьев и плодов сумаха пушистого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования – извлечения листьев и плодов сумаха пушистого. Сырье заготавливали в ботаническом саду ПМФИ, листья – в фазу полного формирования листовой пластинки – июнь 2023 г.; плоды – в фазу созревания – конец октября 2022 г. Сушка образцов сырья воздушно-тенева. Влажность определяли методом высушивания по ГФ XIV [23].

Проводили количественное определение основных групп биологически активных соединений (БАС) листьев и плодов сумаха пушистого:

Дубильные вещества – по методу Фолина-Чокальтеу [21].

Флавоноиды, антоцианы – методом спектрофотометрии [24, 25].

Органические кислоты и аскорбиновую кислоту – методом титрования по ГФ РФ XIV издания [23].

Для изучения антимикробной активности исследуемых образцов сырья получали извлечения по технологии настойки (1:5) спиртом этиловым 40% и 70%. Использовали метод однократной мацерации: высушенное сырье измельчали до размеров частиц 1 мм, помещали в склянку темного стекла, приливали экстрагент – 1 массовая доля сырья – 5 массовых долей экстрагента, склянку плотно укупоривали крышкой, помещали в темное место, без доступа света, настаивали в течение 7 суток. Полученные извлечения хранили в темном месте.

Было получено 4 образца извлечений: образец 1 – листья, спирт этиловый 40%; образец 2 – листья, спирт этиловый 70%; образец 3 – плоды, спирт этиловый 40%; образец 4 – плоды, спирт этиловый 70%.

Для установления антимикробной активности полученных извлечений использовали следующие клинические штаммы: *Escherichia coli* 19, *Salmonella enterica* 14, *Proteus mirabilis* П, *Klebsiella pneumoniae* 1.1, *Shigella flexneri* 16, *Pseudomonas aeruginosa* 22 (выделены из кишечника), *Staphylococcus aureus* 31, *Streptococcus pyogenes* 32 (выделены из зева).

Тест-штаммы микроорганизмов любезно предоставлены сотрудниками лаборатории микробиологии ФГБУ НИИ по изучению лепры Минздрава России г. Астрахани.

При выборе тест-штаммов ориентировались на то, что данные штаммы являются возбудителями известных инфекционных заболеваний, часто имеющих тяжелые последствия для организма человека.

Escherichia coli – острые кишечные расстройства, иногда – развитие холецистита, менингита, сепсиса.

Salmonella enterica – брюшной тиф, пищевое отравление, сальмонеллез, гастроэнтерит, кишечная лихорадка и др.

Proteus mirabilis – нозокомиальные инфекции: пневмония; интраабдоминальные, а также инфекции кожи и мягких тканей.

Klebsiella pneumoniae – пневмония, сепсис, абсцессы в печени, инфекции мочевыводящих путей, бактериемия, менингит.

Shigella flexneri – возбудитель бактериальной дизентерии.

Pseudomonas aeruginosa – поражение респираторного тракта с образованием «биологических пленок», для острого течения – бактериемия и поражение внутренних органов.

Staphylococcus aureus – более 60% стафилококковых инфекций, может поражать любые органы; инфекции кожи, пневмония, эндокардит и остеомиелит.

Streptococcus pyogenes – множество заболеваний, включая фарингит, пневмонию, инфекции ран и кожи, сепсис и эндокардит [26, 27].

Антимикробную активность исследуемых извлечений изучали в соответствии с требованиями ГФ XIV *in vitro* методом диффузии в агар. Определение чувствительности микроорганизмов к исследуемым извлечениям проводили, используя метод «колодцев» [23].

Для культивирования микроорганизмов использовали наборы коммерческих реагентов (питательные среды): мясопептонный бульон, среда АГВ (ООО «НИЦФ Санкт-Петербург», Россия).

Инокулят тест-штаммов готовили из суточной культуры, выращенной в мясопептонном бульоне. Полученные культуры центрифугировали, отмывали физиологическим раствором и отбирали надосадочную жидкость. Из полученного осадка готовили разведение по шкале мутности 0,5 McFarland. Затем чашки Петри, заполненные средой АГВ (агар Гивенталья–Ведьминой, для постановки антибактериальной активности методом дисков) – 20 мл на одну чашку, засеяли методом «газона» тампоном, смоченным в растворе тест-культур, подсушивали в термостате в течение 30 минут. Сверлом (d=6 мм) пробуривали отверстия («колодцы») на расстоянии 2,5 см от центра чашки Петри и на одинаковых друг от друга расстояниях. Полученные «колодцы» заполняли исследуемыми объектами в объеме 0,05 мл. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C на 18-24 часа. Проводили подсчет диаметра зон задержки роста вокруг исследуемых объектов («колодца», включая сам «колодец»).

В качестве объектов сравнения использовали экстрагент, применяемый для получения исследуемых извлечений: спирт этиловый 40% и 70%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты количественного содержания основных групп БАС в листьях и плодах сумаха пушистого приведены в таблице 1.

Таблица 1

Table 1

Количественное содержание основных групп биологически активных соединений в листьях и плодах сумаха пушистого

Quantitative content of the main groups of biologically active compounds in the leaves and fruits of downy sumac

Группа биологически активных соединений A group of bioactive compounds	Листья сумаха пушистого Leaves of staghorn sumac	Плоды сумаха пушистого Fruits of staghorn sumac
Дубильные вещества (в пересчете на кислоту галловую) Tannins (in terms of gallic acid)	22.11±0.08%	10.04±0.17%
Флавоноиды (в пересчете на рутин) Flavonoids (in terms of rutin)	2.04±0.05%	1.96±0.05%
Антоцианы (в пересчете на цианидин-3-гликозид) Anthocyanins (in terms of cyanidin-3-glycoside)	0.007%	0.52±0.03%
Органические кислоты (в пересчете на яблочную кислоту) Organic acids (in terms of malic acid)	0.23±0.02%	6.37±0.15%
Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	0.032±0.002%	0.76±0.02%

Из данных таблицы следует, что для листьев сумаха пушистого доминирующими группами БАС являются дубильные вещества и флавоноиды; органические кислоты и антоцианы имеют следовые значения.

В плодах сумаха пушистого содержание дубильных веществ вдвое меньше, чем в листьях. При этом отмечается высокое содержание органических кислот и антоцианов. Также по содержанию аскорбиновой кислоты плоды значительно превосходят листья. Содержание флавоноидов сопоставимо с таковым в листьях.

Таким образом, по содержанию основных групп БАС несмотря на более низкое содержание дубильных веществ в целом комплекс БАС плодов более богатый.

В извлечениях исследуемых объектов хроматографическими методами (ТСХ, ВЭЖХ) идентифицированы флавоноиды (катехин, эпикатехин, нарингенин, кверцетин, рутин, гиперозид, мирицитрин), фенолкарбоновые кислоты (галловая, кофейная, хлорогеновая, феруловая), дубильные вещества (эпигаллокатехин, эпигаллокатехингаллат, танин), органические кислоты (аскорбиновая, щавелевая, винная, лимонная, яблочная).

Результаты определения антимикробной активности извлечений сумаха пушистого отражены в таблице 2.

Проведенные с помощью метода «колодцев» скрининговые исследования показали, что полученные извлечения из листьев и плодов сумаха пушистого обладают выраженной антибактериальной активностью. Зоны угнетения роста для всех исследуемых штаммов составили более 10 мм, что характеризует их активность как высокую.

В целом извлечения из сумаха пушистого можно охарактеризовать как обладающие поливалентным действием, способные оказывать широкий спектр антимикробной активности.

Однако следует указать на индивидуальные особенности для каждого образца извлечения и для каждой тест-культуры.

Антибактериальная активность (диаметр зоны угнетения) в отношении исследуемых тест-культур находится в интервале от 13,0 мм (минимальный показатель) до 30 мм (максимальный показатель).

Для образца 1 (листья сумаха пушистого, спирт этиловый 40%) среднее значение по 8 тест-культурам составило 17,25 мм; для образца 2 (листья сумаха пушистого, спирт этиловый 70%) – 15,875 мм; для образца 3 (плоды сумаха пушистого, спирт этиловый 40%) – 22,375 мм; для образца 4 (плоды сумаха пушистого, спирт этиловый 40%) – 20,25 мм.

Таблица 2

Table 2

Антимикробная активность извлечений сумаха пушистого

Antimicrobial Activity of Downy Sumac Extracts

Тест-штамм Test strain	Размер диаметра зоны угнетения роста, мм Diameter of the growth inhibition zone, mm			
	Образец 1 Sample 1	Образец 2 Sample 2	Образец 3 Sample 3	Образец 4 Sample 4
	<i>Escherichia coli</i> 19	17	13	15
<i>Salmonella enterica</i> 14	16	13	14	14
<i>Proteus mirabilis</i> II	18	20	25	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1.1	18	20	25	25
<i>Shigella flexneri</i> 16	18	14	23	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 22	16	16	22	26
<i>Staphylococcus aureus</i> 31	18	16	25	24
<i>Streptococcus pyogenes</i> 32	17	15	30	19

Примечание: образец 1 – листья сумаха пушистого, спирт этиловый 40%; образец 2 – листья сумаха пушистого, спирт этиловый 70%; образец 3 – плоды сумаха пушистого, спирт этиловый 40%; образец 4 – плоды сумаха пушистого, спирт этиловый 70%. Соотношения между степенью чувствительности к антибактериальному компоненту и размером диаметра зоны угнетения роста: более 10 мм – высокая активность; 10 мм – умеренная активность; менее 10 мм – отсутствие активности.

Note: Sample 1 – fluffy sumac leaves, ethyl alcohol 40%; Sample 2 – fluffy sumac leaves, ethyl alcohol 70%; Sample 3 – fluffy sumac fruits, ethyl alcohol 40%; Sample 4 – fluffy sumac fruits, ethyl alcohol 70%. The ratio between the degree of sensitivity to the antibacterial component and the size of the diameter of the growth inhibition zone: more than 10 mm – high activity; 10 mm – moderate activity; less than 10 mm – lack of activity.

По способности подавлять тест-культуры выстраивается следующая схема:

Образец 3 → Образец 4 → Образец 1 → Образец 2.

Для всех образцов извлечений наибольшая антимикробная активность проявляется в отношении *Klebsiella pneumoniae* 1.1 (средний показатель 22,0 мм) и *Proteus mirabilis* II (средний показатель 21,75 мм).

Наименьшая антимикробная активность – в отношении *Salmonella enterica* 14 (средний показатель 14,25 мм) и *Escherichia coli* 19 (средний показатель 15,0 мм).

Следует отметить, что образец 3 показал наибольшую антимикробную активность в отношении *Streptococcus pyogenes* 32, равную 30 мм, и значительно превышающую антимикробную активность других образцов (15-19 мм). В то же время в отношении *Pseudomonas aeruginosa* 22 образец 3 уступает по антимикробной активности образцу 4 – 22 мм и 26 мм соответственно.

Извлечения из плодов сумаха пушистого по антимикробной активности в среднем превосходят извлечения из листьев сумаха пушистого (зоны угнетения на 4-5 мм больше), что, возможно, связано с накоплением в плодах групп БАС, обладающих антимикробными свойствами, которые в листьях накапливаются в меньших количествах. К таким БАС можно отнести органические кислоты и, в частности, аскорбиновую кислоту, которых согласно проведенным ранее исследованиям в плодах сумаха пушистого накапливается достаточное количество.

Более высокая антимикробная активность извлечений, полученных спиртом этиловым 40%, в сравнении с извлечениями, полученными спиртом этиловым 70%, объясняется тем, что биологически активные соединения сумаха пушистого, проявляющие антимикробную активность, в большей степени гидрофильны и лучше переходят в спиртовое извлечение с меньшей концентрацией спирта этилового. К таким соединениям можно отнести танины и органические кислоты.

На основании полученных данных следует отметить, что наиболее перспективными в отношении различных патогенных штаммов возбудителей являются 40% спиртовое и немного в меньшей степени 70% спиртовое извлечения из плодов сумаха пушистого.

Учитывая, что сумах пушистый – листопадное дерево, ежегодно дающее достаточную фито-массу плодов, при разработке новых эффективных лекарственных растительных препаратов с антимикробной активностью рационально использовать плоды сумаха пушистого.

Таким образом, установлено, что спиртовые извлечения из листьев сумаха пушистого проявляют умеренную либо выраженную антимикробную активность в отношении наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

Извлечения из плодов сумаха пушистого возможно рекомендовать при лечении инфекционных патологий, вызванных штаммами *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis* – в первую очередь это касается пневмоний.

Как было указано ранее, *Klebsiella pneumoniae* имеет высокую резистентность к антибиотикам. Поэтому в качестве альтернативы при лечении патологий, вызванных вышеуказанным штаммом, в случае развития резистентности к антибиотикам и невозможности оперативно создать бактерицидный эффект целесообразно использование извлечений из плодов сумаха пушистого.

Полученные в результате проведенных экспериментов химико-аналитические и биологические данные позволяют рассматривать исследуемые извлечения из листьев и плодов сумаха пушистого (*Rhus typhina* L.) как потенциальные антимикробные средства для борьбы с различными инфекциями.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Попов И.В. – анализ литературы, планирование исследования, сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи; Папаяни О.И. – анализ литературы, сбор данных, подготовка черновика рукописи; Юртаева Е.А. – анализ литературы, сбор данных, подготовка черновика рукописи; Попова О.И. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Фриго Н.В. Микробиология против инфекций. *Медицинский Вестник*. 2015;31(716):18 [Frigo N.B. Microbiology against infections. *Meditinskiy Vestnik*. 2015;31(716):18 (in Russ.)]
2. Radulovic N.S., Blagojevic P.D., Stojanovic-Radic Z.Z., Stojanovic N.M. Antimicrobial plant metabolites:

- structural diversity and mechanism of action. *Current Medicinal Chemistry*. 2013;20(7):932–952. DOI: 10.2174/092986713805219136.
3. Schilcher K, Horswill AR. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2020;84(3):e00026-00019. DOI: 10.1128/MMBR.00026-19.
 4. Borges A., Ferreira C, Saavedra M.J., Simoes M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb Drug Resist*. 2013; 19(4):256–265. DOI: 10.1089/mdr.2012.0244.
 5. Fraga C.G., Croft K.D., Kennedy D.O., Tomas-Barberan F.A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*. 2019;10:514–528. DOI: 10.1039/c8fo01997e.
 6. Smejkal K., Rjasková V. Use of the plant extracts as an effect alternative therapy of respiratory tract infections. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2016;65: 139–160.
 7. Bisht G., Singh A.K., Kumar A., Kumar P. A review of phytoconstituents as antibacterial agents. *Natural Products Journal*. 2023;13(5):39–56. DOI: 10.2174/2210315512666220804111049.
 8. Mohamea Khalil M.K. Antimicrobial property of Rhus coriaria seeds [Sumach]. *Journal of King Saud University*. 2010;8:257–267.
 9. Abu-Shanab B. et al. Antibacterial activity of Rhus coriaria L. Extract growing in Palestine. *Journal of the Islamic University of Gaza (Natural Sciences Series)*. 2005;13:147–153.
 10. Alsamri H., Athamneh K., Pintus G., Eid A.H., Iratni R. Pharmacological and Antioxidant Activities of Rhus coriaria L. (Sumac). *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(1):73. DOI: 10.3390/antiox10010073.
 11. Зиявитдинов Ж.Ф., Ощепкова Ю.И., Абдулладжанова Н.Г., Салихов Ш.И. Структура полифенолов листьев сумаха дубильного Rhus coriaria L. *Химия растительного сырья*. 2020;(1):133–140 [Ziyavitdinov Zh.F., Oshchepkova Yu.I., Abdulladzhanova N.G., Salikhov Sh.I. Structure of polyphenols of leaves tanning sumac Rhus coriaria L. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2020;(1):133–140 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2020016316. EDN: FREIIV.
 12. Rutledge J., Oh H., Wyss-Coray T. Measuring biological age using omics data. *Nature Reviews Genet*. 2022;23(12):715–727. DOI: 10.1038/s41576-022-00511-7.
 13. de la Iglesia R., Milagro F.I., Campion J., Boque N., Martinez J.A. Healthy properties of proanthocyanidins. *Bio-Factors*. 2010;36(3):159–168. DOI: 10.1002/biof.79.
 14. Wei Z.P., Liu J.J. Rhus typhina, a good tree species for protection forest. *Protection Forest Science and Technology*. 2001;3:81.
 15. Wang S., Zhu F. Chemical composition and biological activity of staghorn sumac (Rhus typhina). *Food Chemistry*. 2017;237:431–443. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.05.111.
 16. Yuan Y., Guo W., Ding W., Luo Y., Wang R., Du N., Liu J., Xu F. Competitive interaction between the exotic plant Rhus typhina L. and the native three Quercus acutissima Carr. in Northern China under different soil N:P ratios. *Plant and Soil*. 2013;372(1-2): 389–400. DOI: 10.1007/s11104-013-1748-3.
 17. Dzhygan O.P., Mylnikova O.A., Zaitseva I.A. The effect of vehicle exhaust emissions on morphometric and physiological characteristics of Rhus typhina. *Biosystems Diversity*. 2018;26(3):250–254. DOI: 10.15421/011838.
 18. Kossah R., Zhang H., Chen W. Antimicrobial and antioxidant activities of Chinese sumac (Rhus typhina L.) fruit extract. *Food Control*. 2011;22(1):128–132. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.06.002.
 19. Olchowik E., Sciepek A., Mavlyanov S., Abdullajanova N., Zamaraeva M. Antioxidant capacities of polyphenols from Sumac (Rhus typhina L.) leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage. *Biomedicine and Preventive Nutrition*. 2012;2(2):99–105. DOI: 10.1016/j.bionut.2011.06.008.
 20. Qiu D.R., Wang D.C., Yang S.X., Zhang Y.M., Zhang M.Z., Sun J.Z., Cong J., Guo J., et al. Chemical constituents from the fruits of Rhus typhina L. and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2016;69:261–265. DOI: 10.1016/j.bse.2016.10.011.
 21. Леонова В.Н., Попов И.В., Попова О.И., Зайцев В.П. Количественное определение суммы фенольных соединений в плодах Rhus typhina (L.). *Химия растительного сырья*. 2019;(1):225–232 [Leonova V.N., Popov I.V., Popova O.I., Zaitsev V.P. Quantitative determination of the sum of phenolic compounds in fruit of Rhus typhina (L.). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2019;(1):225–232 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2019014038. EDN: ETAVHC.
 22. Попов И.В., Леонова В.Н., Попова О.И. Органические кислоты плодов сумаха пушистого (Rhus typhina L.). *Химия растительного сырья*. 2023;(3):201–209 [Popov I.V., Leonova V.N., Popova O.I. Organic acids of the fruits of staghorn sumac (Rhus typhina L.). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2023;(3):201–209 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.20230311734. EDN: LMXYBH.
 23. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том I. Федеральная электронная медицинская библиотека. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Vol. I. Federal'naya elektron'naya meditsinskaya biblioteka (in Russ.)]. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>.
 24. Попов И.В., Чумакова В.В., Попова О.И., Чумаков В.Ф. Биологически активные вещества, проявляющие антиоксидантную активность, некоторых представителей семейства Lamiaceae, культивируемых в Ставропольском крае. *Химия растительного сырья*. 2019;(4):163–172 [Popov I.V., Chumakova V.V., Popova O.I., Chumakov V.F. Biologically active substances exhibiting antioxidant activity, some representatives of the Lamiaceae family cultivated in the Stavropol Region. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2019;(4):163–172 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2019045200. EDN: ULYWBC.
 25. Тохсырова З.М., Попов И.В., Попова О.И. Исследование фенольных соединений листьев и побегов розмарина лекарственного (Rosmarinus officinalis L.), интродуцированного в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического ин-

- ститута. *Химия растительного сырья*. 2018;(3): 199–207 [Tokhsirova Z.M., Popov I.V., Popova O.I. The study of phenolic compounds the leaves and shoots of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), introduced in botanical garden of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2018;(3):199–207 (in Russ.)]. DOI: 10.14258/jcprm.2018033733. EDN: YABUXZ.
26. Zhang Y.M., Rock C.O. Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the FabG and FabI reductases of bacterial type II fatty-acid synthase. *J Biol Chem*. 2004;279(30): 30994–31001. DOI: 10.1074/jbc.M403697200.
27. Азнабаева Л.М., Михайлова Е.А., Жеребятьева О.О., Киргизова С.Б., Миронов А.Ю., Коваленко А.Л., Таликова Е.В. Новый подход к санации резидентных стафилококковых бактерионосителей с позиции фармакологической коррекции микросимбиоза. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(7):36–40 [Aznabaeva L.M., Mikhailova E.A., Zherebyatieva O.O., Kirgizova S.B., Mironov A.Yu., Kovalenko A.L., Talikova E.V. A new approach to the treatment of resident staphylococcal bacterial carries from the standpoint of pharmacological correction of microsymbiosis. *Experimental and clinical pharmacology*. 2023;86(7):36–40 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-7-36-40. EDN: FFENNN.

Поступила в редакцию 02.02.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Попов И.В., Папаяни О.И., Юртаева Е.А., Попова О.И. Биологически активные соединения листьев и плодов сумаха пушистого (*Rhus typhina* L.) и их роль в проявлении антимикробной активности. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):57–64. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/06. EDN: SSIMRN.

BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF LEAVES AND FRUITS OF STAGHORN SUMAC (RHUS TYPHINA L.) AND THEIR ROLE IN THE MANIFESTATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY

© Popov I.V., Papayani O.I., Yurtaeva E.A., Popova O.I.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (PMPI – branch of VolgSMU)

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Stavropol krai, 357500, Russian Federation

Objective – study of the antibacterial activity of extracts from leaves and fruits of staghorn sumac.

Materials and methods. Extraction of leaves and fruits of staghorn sumac harvested in the Botanical Garden of the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, leaves – June 2023; fruits – end of October 2022. Determination of the main groups of biologically active compounds was carried out: tannins by the Folin-Chocalteu method, flavonoids and anthocyanins by spectrophotometry, organic acids and ascorbic acid by titration. To establish the antimicrobial activity of the studied extracts, eight clinical test strains were used. Antimicrobial activity was carried out by diffusion into agar. Determination of the sensitivity of microorganisms to the extractions under study using the "well" method.

Results. For staghorn sumac leaves, the dominant groups of bioactive compounds are tannins and flavonoids. The fruit has a lower content of tannins, but there is a high content of organic acids and anthocyanins. Screening studies have shown that extracts from the leaves and fruits of staghorn sumac have a pronounced antibacterial activity. Growth inhibition zones for all studied strains were more than 10 mm (from 13 mm to 30 mm), which characterizes their activity as high.

Conclusion. Antimicrobial activity against the most common pathogens of infectious diseases has been established: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. The obtained chemical, analytical and biological data allow us to consider extracts from the leaves and fruits of staghorn sumac (*Rhus typhina* L.) as potential antimicrobial agents.

Keywords: staghorn sumac; Anacardiaceae; biologically active compounds; test strains; antimicrobial activity.

Popov Ivan V. – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor at the Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-5990-0000. E-mail: beegeeslover@mail.ru (corresponding author)

Papayani Oksana I. – Senior lecturer at the Department of Microbiology and Immunology, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-6645-7263. E-mail: ksuxa011@yandex.ru

Yurtaeva Ekaterina A. – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor at the Department of Microbiology and Immunology, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1639-1881. E-mail: tyrkova.katerina@yandex.ru

Popova Olga I. – Dr. Sci. (Pharm.), Professor at the Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5610-4588. E-mail: beegeeslover@mail.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 authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Popov I.V. – literature analysis, research planning, data collection, analysis and interpretation of the data obtained, preparation of a draft manuscript; Papayani O.I. - literature analysis, data collection, preparation of a draft manuscript; Yurtaeva E.A. – literature analysis, data collection, preparation of a draft manuscript; Popova O.I. – development concepts and design, verification of critical intellectual content, final approval for publication of the manuscript.

Received 02.02.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Popov I.V., Papayani O.I., Yurtaeva E.A., Popova O.I. Biologically active compounds of leaves and fruits of staghorn sumac (*Rhus typhina* L.) and their role in the manifestation of antimicrobial activity. *Humans and their health*. 2024;27(4):57–64. DOI: 10.21626/vestnik/2024-3/06. EDN: SSIMRN.

ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕТРАЭТИЛТИУРАМДИСУЛЬФИДА (АНТАБУСА) МЕТОДОМ ПРОИЗВОДНОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

© Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Рогова О.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

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

Тетраэтилтиурамдисульфид, или антабус (1,1',1'',1''''-[дисульфанедилбис-(карбонотиоилнитрило)]тетрэтан) – биологически активное вещество, которое может применяться для лечения алкогольной и кокаиновой зависимостей, ряда инфекций, катаракты, некоторых неврологических и онкологических заболеваний.

Цель – разработка методики определения тетраэтилтиурамдисульфида в субстанции и модельном биологическом объекте (ткани печени) с применением метода производной спектрофотометрии.

Материалы и методы. Объект исследования – тетраэтилтиурамдисульфид (1,1',1'',1''''-[дисульфанедилбис-(карбонотиоилнитрило)]тетрэтан). Примененный химико-аналитический метод исследования – производная электронная спектрофотометрия второго порядка. Как модель биологической матрицы использовалась печеночная ткань.

Результаты. Разработана методика исследования биоматериала на присутствие тетраэтилтиурамдисульфида, на основе изолирования толуолом, очистки путем смены растворителя и сорбции в тонком слое силикагеля, обнаружения методом ТСХ с последующей идентификацией и оценкой количественного содержания методом спектрофотометрии в УФ-области на основе расчета производных второго порядка. Уточнено положение максимумов выраженной и скрытых полос поглощения аналита в электронном спектре. Показано наличие линейной зависимости интенсивности светопоглощения тетраэтилтиурамдисульфида в среде ацетонитрила от концентрации аналита в фотометрируемом растворе (интервал 1,0-24,0 мкг/мл). Установлено, что разработанная методика позволяет определять $(61,42-63,11) \pm (2,66-4,21)\%$ тетраэтилтиурамдисульфида в модельных смесях с тканью печени, содержащих 0,005-0,2% аналита. Значения стандартного отклонения S и относительного стандартного отклонения S_r , % при этом составляют 2,14-3,39 и 3,39-5,51 соответственно.

Заключение. С применением метода производной спектрофотометрии разработана воспроизводимая и правильная методика оценки качественного и количественного содержания тетраэтилтиурамдисульфида в субстанции и модельной биоматрице (ткани печени).

Ключевые слова: тетраэтилтиурамдисульфид; биоматериал; изолирование и очистка; ТСХ и производная спектрофотометрия; определение.

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.)

Коваленко Евгений Анатольевич – канд. фармацевт. наук, соискатель кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-7492-9598. E-mail: olefar@yandex.ru

Рогова Ольга Владимировна – студент, КГМУ, Курск. ORCID iD: 0009-0008-0721-9175. E-mail: Olg.Synkova@yandex.ru

Тетраэтилтиурамдисульфид (антабус) (синонимы: 1,1',1'',1''''-[дисульфанедилбис-(карбонотиоилнитрило)]тетрэтан; N,N,N',N'-тетраэтилтиурамдисульфид; торговые наименования: антабус, дисульфирам, тетурам) – биологически активное вещество, входящее в состав многих противоалкогольных препаратов и являющееся одним из наиболее действенных лекарственных средств для лечения хронического алкоголизма [1, 2].

Помимо расстройств, связанных с употреблением алкоголя, новые данные подтверждают потенциальную роль тетраэтилтиурамдисульфида в лечении других зависимостей (например, кокаиновой), инфекций (вызванных, например, бактериями, такими как *Staphylococcus aureus* и *Borrelia burgdorferi*, вирусами, паразитами), воспалительных состояний, неврологических заболеваний и злокачественных новообразований [3-6].

Возможно применение данного соединения в виде комплекса включения с циклодекстрином для лечения катаракты [7].

Формула аналита представлена на рис. 1, имеет вид:

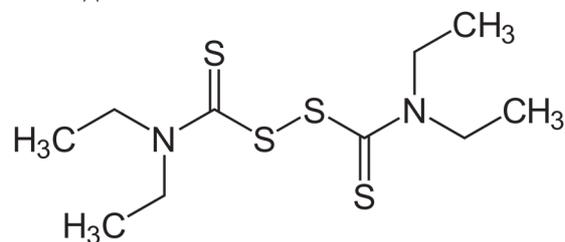


Рис. 1. Структурная формула тетраэтилтиурамдисульфида.

Fig. 1. Structural formula of tetraethylthiuram disulfide.

Тетраэтилтиурамдисульфид представляет собой не обладающие определенным вкусом белые с кремоватым оттенком кристаллы с температурой плавления 70-73°C, плохо растворимые в воде

и растворимые или хорошо растворимые в широком спектре органических растворителей (алканолах, галогеналканах, простых и сложных эфирах, аренах, нитрилах, диалкилкетонах).

Отмечаются выраженные токсические свойства вещества для теплокровных. Значения полуживотной дозы тетраэтилтиурамдисульфида для лабораторных крыс и мышей при его пероральном попадании в организм соответственно равны 500 и 1980 мг/кг [8, 9].

В отечественной и иностранной медицинской литературе можно обнаружить довольно много упоминаний о наличии летальных исходов после употребления тетраэтилтиурамдисульфида людьми как случайного, так и в лечебных целях с нарушением дозировки или схемы лечения. Для человека смертельная доза этого соединения – 30 г, а в присутствии этанола в крови выше 1% – 1000 мг. Для детей LD₁₀₀ тетраэтилтиурамдисульфида соответствует интервалу 3-10 г [10-12].

Активное применение рассматриваемого вещества, а также факты наличия летальных отравлений вследствие его употребления ставят его в ряд важных объектов судебно-химического исследования.

До настоящего времени ряд аспектов судебно-химического анализа тетраэтилтиурамдисульфида продолжают оставаться недостаточно разработанными.

Все это обуславливает необходимость проведения более широких и детальных судебно-химических исследований данного вещества.

Цель выполненного исследования – разработка методики определения тетраэтилтиурамдисульфида в модельном биологическом объекте (ткани печени) с применением метода производной спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явился тетраэтилтиурамдисульфид (ФС 42-0550630805), содержащий не менее 99% действующего вещества.

В качестве модельной биоматрицы была рассмотрена ткань печени, измельченная до размеров 0,2-0,5 см, на основе которой готовили модельные смеси с аналитом необходимой концентрации в диапазоне 0,005-0,2%.

В качестве изолирующего агента, позволяющего извлечь тетраэтилтиурамдисульфид из биологического материала, применен толуол, позволяющий получать относительно чистые извлечения по сравнению с органическими растворителями, в той или иной степени смешивающимися с водой. Проведен поиск оптимальных условий изолирования аналита толуолом.

Для очистки извлечений выбрана ТСХ (нормальнофазовый вариант) на пластинах «Сорбфил» ПТСХАФ-А-УФ. Хроматограммы детектировали в генерируемом УФ-излучении (длина волны 254 нм) [13, 14].

Методами идентификации явились ТСХ и производная спектрофотометрия второго порядка. Регистрацию оптической плотности растворов тетраэтилтиурамдисульфида проводили, применяя прибор СФ-2000. Расчет производных спектров проводился методом численного дифференцирования [15].

Метод производной спектрофотометрии использовался также для оценки количественного содержания аналита. При этом строили градуировочный график по значениям производной второго порядка от значений удельного коэффициента поглощения, рассчитанных в области длинноволнового максимума для серии градуировочных растворов тетраэтилтиурамдисульфида в ацетонитриле. В градуировочную серию входило 9 растворов с концентрациями аналита 0,0001, 0,0002, 0,0003, 0,0006, 0,001, 0,0012, 0,0016, 0,0020, 0,0024%.

Линейный участок построенного градуировочного графика математически описывали уравнением прямой линии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальными условиями изолирования тетраэтилтиурамдисульфида толуолом явилось двукратное по 30 минут настаивание биоматрицы с изолирующей жидкостью при массовом соотношении биоматериал-толуол 1:2 и периодическом перемешивании.

Изучение влияния уровня содержания аналита в биоматрице на степень его извлечения толуолом в оптимальных условиях показало, что при концентрации тетраэтилтиурамдисульфида в ткани печени в диапазоне 0,005-0,2% степень извлечения достаточно стабильна и составляет $(61,85-63,42) \pm (2,55-4,07\%)$.

При очистке и идентификации тетраэтилтиурамдисульфида, извлеченного из биоматериала, методом ТСХ в качестве подвижной фазы предложена смесь растворителей гександиоксан-пропанол-2 (15:5:1). В данном режиме хроматографирования аналит проявлялся на хроматограммах в виде темного пятна с $R_f = 0,88 \pm 0,03$.

В качестве растворяющей среды для идентификации аналита методом спектрофотометрии применен ацетонитрил. Спектр поглощения тетраэтилтиурамдисульфида в интервале длин волн 190-360 нм представлен на рис. 2.

Как видно из данного рисунка, в данном волновом диапазоне аналит имеет три максимума поглощения – при 219 ± 2 , около 250 и около 282 нм. Причем максимумы в областях ≈ 251 и ≈ 282 нм являются невыраженными (скрытыми). Рассчитанные значения молярного коэффициента в областях длин волн 219, 251 и 282 нм составляют соответственно 35699, 23047 и 18058.

Спектры производных первого и второго порядка, рассчитанные для ацетонитрильного раствора аналита, представлены на рис. 3.

Как видно из рис. 3, рассчитанные производные позволяют повысить селективность спектрофотометрического определения аналита за счет более четкого выявления выраженной коротковолновой и двух более длинноволновых скрытых полос и уточнения положения их максимумов. По результатам расчета вторых производных УФ-спектра аналита в ацетонитриле положения максимумов полос поглощения соответствуют длинам волн 222 нм, 257 нм и 291 нм.

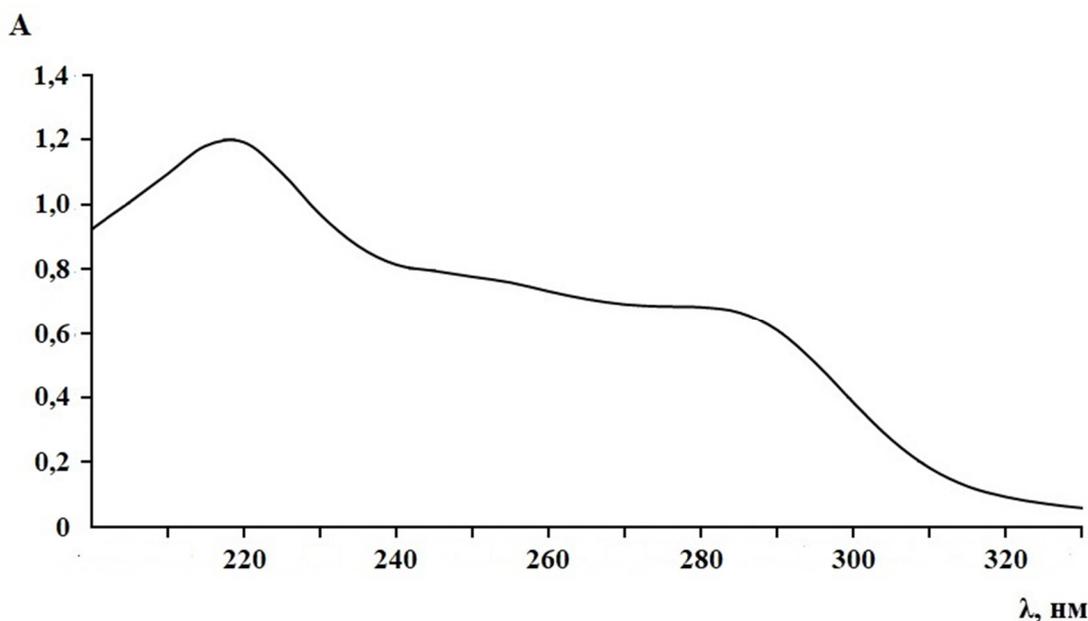


Рис. 2. Электронный спектр 0,001% раствора тетраэтилтиурамдисульфида в ацетонитриле.

Fig. 2. The electronic spectrum of 0.001% tetraethylthiuram disulfide solution in acetonitrile.

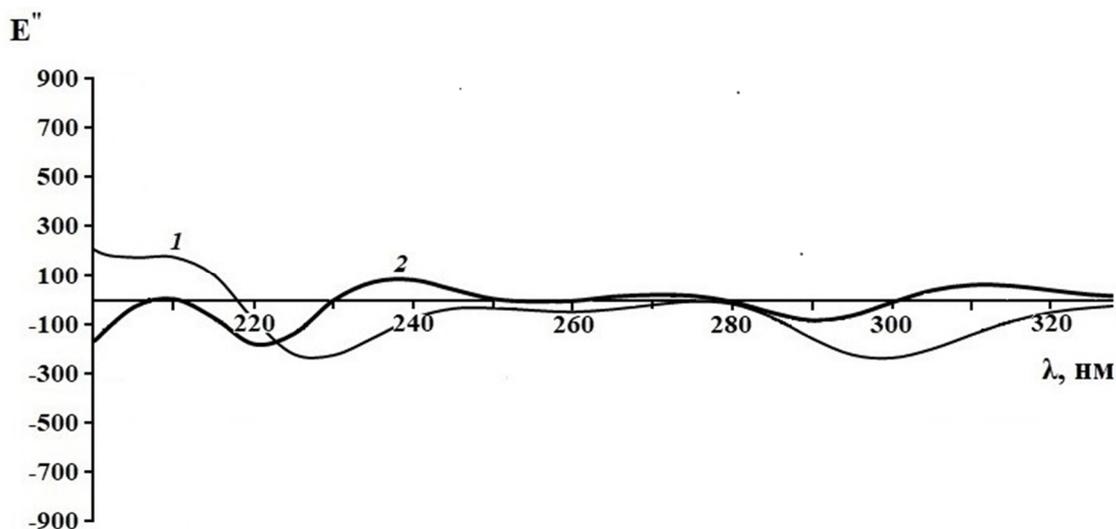


Рис. 3. Производные первого (1) и второго (2) порядка электронного спектра 0,001% раствора тетраэтилтиурамдисульфида в ацетонитриле.

Fig. 3. Derivatives of the first (1) and second (2) order of the electronic spectrum of a 0.001% solution of tetraethylthiuram disulfide in acetonitrile.

Линейный участок градуировочного графика соответствует интервалу концентраций аналита в ацетонитрильном растворе 1,0-24,0 мкг/мл и описывается уравнением прямой линии, имеющим следующий вид: $E''=8,57954 \times C + 0,04699$ (E'' – величина второй производной от удельного коэффициента поглощения аналита в области 291 нм, C – содержание тетраэтилтиурамдисульфида, мкг в мл детектируемого раствора).

При проведении количественного определения тетраэтилтиурамдисульфида в серии из 6 параллельных опытов методом производной спектрофотометрии каждую из 6 навесок растворяли в ацетонитриле (50 мл, мерная колба). Из этого раствора отбирали 0,6 мл и разбавляли до 25 мл ацетонитрилом и действовали по алгоритму, указанному выше. На основе анализа результатов, которые отражены в табл. 1, установлено, что предлагаемый вариант определения отличается достаточно высокими воспроизводимостью и правильностью.

Значения стандартного отклонения (S) и относительного стандартного отклонения (Sr) равны соответственно 0,89 и 0,009. Относительная ошибка среднего результата ($\bar{\varepsilon}$) – 0,94.

На основе выполненного комплекса предварительных исследований предложена схема определения тетраэтилтиурамдисульфида в биологическом материале (модель – ткань печени), которая состояла в следующем.

Примерно 10-25 г (точная навеска) ткани трупного органа (ткань печени, диспергированная до частиц размером 2-5 мм), предположительно содержащей тетраэтилтиурамдисульфид, последовательно по полчаса дважды обрабатывали толуолом, энергично перемешивая с периодичностью 8-10 мин. При этом соблюдали соотношение масс органического экстрагента и биоматрицы 2:1. Получаемые на первом и втором этапах настаивания жидкие вытяжки сливали в одну чашку для выпаривания и удаляли толуол, поместив чашку в поток воздуха ком-

натной температуры. Оставшееся содержимое чашки трижды по 2-3 мин. обрабатывали порциями ацетона, собирая ацетоновые извлечения в отдельной выпарительной чашке. После этого удаляли ацетон из чашки в условиях, приводимых выше. Оставшееся содержимое чашки растворяли в 5 мл этилацетата. 0,5 мл (навеска печени 25 г) или 1,0 мл (навеска печени 10 г) образующегося раствора переносили на пластину «Сорбфил» 10×10 см в область стартовой линии в форме широкой (1 см) полосы длиной 6-7 см. В цилиндрической стеклянной камере емкостью около 650 см³ проводили хроматографирование параллельно с веществом-стандартом, применяя при этом подвижную фазу гексан-диоксан-пропанол-2 (15:5:1). Проявление получаемых хроматограмм осуществляли при облучении их световым потоком с длиной волны 254 нм. Тетраэтилтиурамдисульфид идентифицируют на хроматограммах по значению R_f , совпадающему с таковым вещества-свидетеля (0,88±0,03). Предел обнаружения рассматриваемого вещества в данном случае составляет 0,3-0,4 мкг в пятне. При использовании в качестве внутреннего стандарта карбофурана тетраэтилтиурамдисульфид идентифицировали по значению R_s исследуемого вещества, рассчитанному относительно R_f внутреннего стандарта. Параметры хроматографирования тетраэтилтиурамдисульфида и карбофурана (внутреннего стандарта) представлены в табл. 2.

Завершив стадию хроматографирования, аналит элюировали из сорбента ацетонитрилом (выдержка 15 минут и периодическое перемешивание) в объеме 5 мл и регистрировали значения оптической плотности элюата в диапазоне 190-360 нм (область «кварцевого ультрафиолета») с интервалом 5 нм. Определяли положения точек максимумов с использованием рассчитанных вторых производных УФ-спектра аналита и сравнивали их с таковыми значениями у вещества-стандарта.

Таблица 1

Table 1

Результаты оценки содержания тетраэтилтиурамдисульфида в субстанции (n=6; P=0,95)

Results of the assessment of the content of tetraethylthiuram disulfide in the substance (n=6; P=0.95)

Взято субстанции тетраэтилтиурамдисульфида, г Taken substance tetraethylthiuram disulfide, g	Найдено тетраэтилтиурамдисульфида Tetraethylthiuram disulfide found		Метрологические характеристики Metrological characteristics
	г/г	%	
0.02534	0.02502	98.75	$\bar{x} = 100.04$
0.02452	0.02462	100.42	$S = 0.89$
0.02619	0.02614	99.82	$S_r = 0.009$
0.02475	0.02503	101.11	$S_{\bar{x}} = 0.37$
0.02503	0.02523	100.78	$\Delta\bar{x} = 0.94$
0.02426	0.02411	99.37	$\bar{\varepsilon} = 0.94$

На основе расчета значений второй производной в области длинноволнового (291 нм) максимума определяли количественное содержание тетраэтилтиурамдисульфида, принимая во внимание уравнение регрессии.

Результаты 5 параллельных опытов (доверительная вероятность 0,95) по определению тетраэтилтиурамдисульфида в биологическом (трупном) материале разработанной методикой на основе расчета производных второго порядка содержатся в табл. 3.

По данным табл. 3 можно заключить, что предлагаемая схема определения тетраэтилтиурамдисульфида в биоматериале позволяет открывать в биоматрице 61,42-63,11% аналита с доверительной вероятностью 2,66-4,21. Разработанную методику отличают достаточно высокие воспроизводимость и правильность. Значения стандартного отклонения S и относительного стандартного отклонения S_r , % колеблются в диапазонах 2,14-3,39 и 3,39-5,51 соответственно при исследовании образцов биоматрицы, содержащих 0,005-0,2% тетраэтилтиурамдисульфида.

Обобщение итогов выполненного комплекса исследований можно представить следующими выводами:

1. Проведя расчет первых и вторых производных электронного спектра тетраэтилтиурамдисульфида в ацетонитриле, получены уточненные значения максимумов полос поглощения: 222 нм, 257 нм и 291 нм.

2. Выявлена и описана уравнением регрессии область линейной зависимости значений второй производной спектра аналита в ацетонитриле от содержания тетраэтилтиурамдисульфида в детектируемом растворе.

3. На основе использования производной спектрофотометрии предложена схема оценки качественного и количественного содержания аналита в субстанции и модельном биологическом объекте (ткани печени).

4. При исследовании образцов биоматрицы, содержащих 0,005-0,2% тетраэтилтиурамдисульфида, значения стандартного отклонения S и относительного стандартного отклонения S_r , % колеблются в диапазонах 2,14-3,39 и 3,39-5,51 соответственно.

Таблица 2

Table 2

Параметры хроматографирования рассматриваемого соединения методом ТСХ (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ; подвижная фаза гексан-диоксан-пропанол-2 (15:5:1))

Chromatography parameters for the compound under consideration using the TLC method (Sorbfil PTSH-AF-A-UV plates; mobile phase hexane-dioxane-propanol-2 (15:5:1))

Анализируемое вещество Analyzed substance	Rf	Rs	B	k'	N	H, мм	Предел обнаружения, мкг в пятне (проявление в УФ-свете) Detection limit, mcg in spot (development in UV light)
ТЭТД / TETD	0.88	1.19	1.14	0.14	10113	0.008	0.3-0.4
КФ / CF	0.74	1.00	1.35	0.35	4576	0.018	0.4-0.5

Примечание: ТЭТД – тетраэтилтиурамдисульфид; КФ – карбофуран (внутренний стандарт).

Note: TETD – tetraethylthiuram disulfide; CF – carbofuran (internal standard).

Таблица 3

Table 3

Результаты определения различных концентраций тетраэтилтиурамдисульфида в биологическом материале (ткани печени)

Results of determination of various concentrations of tetraethylthiuram disulfide in biological material (liver tissue)

Концентрация (%) тетраэтилтиурамдисульфида в ткани печени Concentration (%) of tetraethylthiuram disulfide in liver tissue	Найдено тетраэтилтиурамдисульфида, % Tetraethylthiuram disulfide found, %					
	\bar{x}	S	S_r , %	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	ϵ
0.005	61.42	3.39	5.51	1.51	4.21	6.85
0.01	61.93	3.04	4.91	1.36	3.78	6.10
0.02	62.22	2.76	4.43	1.23	3.43	5.51
0.04	62.67	2.57	4.43	1.15	3.19	5.09
0.1	62.96	2.24	3.56	1.00	2.78	4.42
0.2	63.11	2.14	3.39	0.96	2.66	4.21

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 17.10.2022 г., протокол № 3.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Шорманов В.К. – анализ и интерпретация данных, написание текста статьи; Коваленко Е.А. – разработка концепции и дизайна; Рогова О.В. – получение цифровой информации с приборов и ее обработка.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lanz J., Biniiaz-Harris N., Kuvaldina M., Jain S., Lewis K., Fallon B.A. Disulfiram: Mechanisms, Applications, and Challenges. *Antibiotics*. 2023;12:524. DOI: 10.3390/antibiotics12030524.
- Agarwal R. Diffuse subendocardial ischemia secondary to disulfiram-alcohol ingestion. *Indian J Pharmacol*. 2022;54(2):146–147. DOI: 10.4103/ijp.ijp_930_21.
- Frankl S., Hadar P.N., Yakhkind A., Lang A.E., Sandmark D.K. Devastating Neurological Injury as a Result of Treatment of «Chronic Lyme Disease». *Mayo Clin. Proc.* 2021;96:2005–2007. DOI: 10.1016/j.mayocp.2021.05.011.
- Nsairat H., Alshaer W., Lafi Z., Ahmad S., Al-Sanabrah A., El-Tanani M. Development and validation of reversed-phase-HPLC method for simultaneous quantification of fulvestrant and disulfiram in liposomes. *Bioanalysis*. 2023;15(23):1393–1405. DOI: 10.4155/bio-2023-0137.
- Lanz J., Biniiaz-Harris N., Kuvaldina M., Jain S., Lewis K., Fallon B.A. Disulfiram: Mechanisms, Applications, and Challenges. *Antibiotics*. 2023;12:524. DOI: 10.3390/antibiotics12030524.
- Potula H-H.S.K., Shahryari J., Inayathullah M., Malkovskiy A.V., Kim K.M., Rajadas J. Repurposing Disulfiram (Tetraethylthiuram Disulfide) as a Potential Drug Candidate against *Borrelia burgdorferi* In Vitro and In Vivo. *Antibiotics*. 2020;9(9):633. DOI: 10.3390/antibiotics9090633.
- Кедик С.А., Панов А.В., Тюкова В.С. Стандартизация комплекса включения дисульфирама с гидроксипропил-β-циклодекстрином для его использования в качестве фармацевтической суб-

- станции. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;(2):104–107 [Kedik S.A., Panov A.V., Tyukova V.S. Standardization of the inclusion complex of disulfiram with hydroxypropyl-β-cyclodextrin for its use as a pharmaceutical substance. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. 2016;(2):104–107 (in Russ.)]. EDN: WYJZLN.
- Gajree N., Khan N. Methaemoglobinemia Secondary to Disulfiram. *Alcohol and Alcoholism*. 2022;57(4):529. DOI: 10.1093/alcalc/agab040,
 - Jafarova S. The Role of Neurotransmitters in Protecting Brain during Acute Hypoxia. *Bull Georg Natl Acad Sci*. 2021;15(3):79–84.
 - Stransky G., Lambing M.K., Simmons G.T., Robinson A. Methemoglobinemia in a fatal case of disulfiram-ethanol reaction. *J Anal Toxicol*. 1997;21:178–179. DOI: 10.1093/jat/21.2.178.
 - Radaschin D.S., Bujoreanu F.C., Tatu A.L. Disulfiram-Induced Baboon Syndrome. *Am. J. Ther.* 2020;29(2):e272-e273. DOI: 10.1097/MJT.0000000000001227.
 - Heath M.J., Pachar J.V., Perez Martinez A.L., Toseland P.A. An exceptional case of lethal disulfiram-alcohol reaction. *Forensic Science International*. 1992;56(1):45–50. DOI: 10.1016/0379-0738(92)90145-m.
 - Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П., Маслов С.В., Галушкин С.Г., Прониченко Е.И. Определение карбофурана при судебно-химическом исследовании биологического материала. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2013;56(4):30–34 [Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Duritsyn E.P., Maslov S.V., Galushkin S.G., Pronichenko E.I. Determination of carbofuran in forensic chemical analysis of biological material. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2013;56(4):30–34 (in Russ.)]. EDN: QZXJRT.
 - Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П. Определение фурадана в биологических жидкостях. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2005;48(5):36–39 [Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Duritsyn E.P. Determination of furadan in biological fluids. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2005;48(5):36–39 (in Russ.)].
 - Квачахия Л.Л., Шорманов В.К., Максина Е.В. Определение мексидола в таблетках методом производной спектрофотометрии. *Человек и его здоровье*. 2023;26(2):80–85 [Kvacakhia L.L., Shormanov V.K., Maksina E.V. Determination of Mexidol in tablets by derivative spectrophotometry. *Humans and their health*. 2023;26(2):80–85 (in Russ.)]. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/10. EDN: DHVEMI.

Поступила в редакцию 27.11.2024

Подписана в печать 25.12.2024

Для цитирования: Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Рогова О.В. Особенности определения тетраэтилтиурамдисульфида (антабуса) методом производной спектрофотометрии. *Человек и его здоровье*. 2024;27(4):65–71. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/07. EDN: YHONAJ.

PECULIARITIES OF DETERMINATION OF TETRAETHYLTHIURAMDISULFIDE (ANTABUSE) BY DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRY

© Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Rogova O.V.

Kursk State Medical University (KSMU)

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

Tetraethylthiuram disulfide or antabuse (1,1',1'',1'''-[disulfanedylbis-(carbonothioyl)nitri]l)tetratane) is a biologically active substance that can be used to treat alcohol and cocaine addiction, a number of infections, cataracts, and some neurological and oncological diseases.

Objective – development of a method for determining tetraethylthiuram disulfide in a substance and a model biological object (liver tissue) using the derivative spectrophotometry method.

Materials and methods. The object of the study is tetraethylthiuram disulfide (1,1',1'',1'''-[disulfanedylbis-(carbonothioyl)nitri]l)tetratane). The applied chemical-analytical method of research is second-order derivative electron spectrophotometry. Liver tissue was used as a model of a biological matrix.

Results. A method for studying biomaterial for the presence of tetraethylthiuram disulfide has been developed, based on isolation with toluene, purification by changing the solvent and sorption in a thin layer of silica gel, detection by TLC with subsequent identification and assessment of the quantitative content by spectrophotometry in the UV region based on the calculation of second-order derivatives. The position of the maxima of the pronounced and hidden absorption bands of the analyte in the electronic spectrum has been clarified. The presence of a linear dependence of the intensity of light absorption of tetraethylthiuram disulfide in the acetonitrile medium on the concentration of the analyte in the photometric solution (range 1.0-24.0 µg/ml) has been shown. It has been established that the developed method allows determining $(61.42-63.11) \pm (2.66-4.21)\%$ tetraethylthiuram disulfide in model mixtures with liver tissue containing 0.005-0.2% of the analyte. The values of the standard deviation S and the relative standard deviation Sr, % are 2.14-3.39 and 3.39-5.51, respectively.

Conclusion. Using the method of derivative spectrophotometry, a reproducible and correct method for assessing the qualitative and quantitative content of tetraethylthiuram disulfide in the substance and model biomatrix (liver tissue) has been developed.

Keywords: tetraethylthiuram disulfide; biomaterial; isolation and purification; TLC and derivative spectrophotometry; determination.

Shormanov Vladimir K. – Dr. Sci. (Pharm.), Professor at the Department of Pharmaceutical, toxicological, and analytic chemistry, KSMU, Kursk Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8872-0691. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru (corresponding author)

Kovalenko Evgeny A. – Cand. Sci. (Pharm.), Applicant at the Department of Pharmaceutical, toxicological, and analytic chemistry, KSMU, Kursk Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-7492-9598. E-mail: olefar@yandex.ru

Rogova Olga V. – Student, KSMU, Kursk Russian Federation. ORCID iD: 0009-0008-0721-9175. E-mail: Olg.Synkova@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.

COMPLIANCE WITH PRINCIPLES OF ETHICS

The study protocol was approved by the regional ethics committee of Kursk State Medical University on 17.10.2022, protocol No. 3.

AUTHORS CONTRIBUTION

Shormanov V.K. – data analysis and interpretation, writing the article; Kovalenko E.A. – concept and design development; Rogova O.V. – obtaining digital information from devices and processing it.

Received 27.11.2024

Accepted 25.12.2024

For citation: Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Rogova O.V. Peculiarities of determination of tetraethylthiuramdisulfide (antabuse) by derivative spectrophotometry. *Humans and their health*. 2024;27(4):65–71. DOI: 10.21626/vestnik/2024-4/07. EDN: YHONAJ.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. Настоящие правила основаны на «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (icmje.org).

Все публикации в журнале являются бесплатными. Издание входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов ВАК, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

В журнале «Человек и его здоровье» печатаются ранее не опубликованные оригинальные, проблемные и обзорные научные работы по актуальным вопросам в области экспериментальной биологии и медицины, клинической медицины и фармации. Направляемые оригинальные работы должны давать полное представление о методах исследования, собранном материале и его статистической обработке (включая указание конкретных статистических критериев).

В журнале публикуются работы по следующим специальностям:

3.1. Клиническая медицина

- 3.1.9 Хирургия
- 3.1.18 Внутренние болезни
- 3.1.20 Кардиология
- 3.1.21 Педиатрия
- 3.1.24 Неврология

3.2. Профилактическая медицина

- 3.2.7 Аллергология и иммунология

3.3. Медико-биологические науки

- 3.3.2 Патологическая анатомия
- 3.3.3 Патологическая физиология
- 3.3.1 Анатомия человека
- 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

3.4. Фармацевтические науки

- 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

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.

Направляя статью в журнал, автор тем самым:

• передает редакции журнала «Человек и его здоровье» права на издание и переводы своей работы (включая возможность направления в научно-информационные базы и пр.);

• гарантирует оригинальность статьи (в частности, что статья не была опубликована ранее, в том числе частично и/или на другом языке, и не находится на рассмотрении в другом журнале);

• гарантирует соблюдение международных и российских этических и правовых норм при проведении экспериментальных, доклинических и клинических

исследований, а также соответствующих норм публикационной этики;

• подтверждает, что статья не содержит сведений, относящихся к контролируемым технологиям, либо публикация таких сведений согласована специальным экспертным советом;

• несет полную ответственность за целостность и достоверность данных, а также точность их анализа;

• дает согласие для передачи статьи третьим лицам на внешнее рецензирование, а также для публикации любой информации, полученной редакцией в отношении статьи (в частности, занимаемой должности и места работы, адреса электронной почты, ORCID iD и т.д.);

• подтверждает ознакомление с текстом рукописи и его полное одобрение;

• дает своей волей и в своих интересах согласие на предоставление в редакцию своих полных, актуальных и достоверных персональных данных (в необходимом согласно правилам журнала составе) и их обработку любым способом, а также включение в общедоступные источники, на срок до достижения цели обработки персональных данных или до момента утраты необходимости в их достижении;

• соглашается с тем, что научная статья будет распространяться на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License (CC BY), при которой опубликованные материалы могут быть использованы в коммерческих или некоммерческих целях при указании авторов;

• полностью принимает правила (Редакционную политику и Правила для авторов) журнала «Человек и его здоровье».

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 в электронном виде через сайт либо на почту kursk-vestnik@mail.ru:

• официальное направление с подписью и печатью руководителя от учреждения, в котором выполнена работа (кроме работ, выполненных только в КГМУ);

• при необходимости – экспертное заключение с подписью и печатью;

• статья (включая рефераты на русском и английском языках, сведения об авторах, таблицы, рисунки, диаграммы и пр.) в формате *.doc, *.docx или *.rtf. Для

удобства рецензирования и редактирования страницы рукописи нумеруется начиная с первой;

•скан-копия авторского соглашения в формате PDF.

В сведениях об авторах на русском и английском языках для каждого автора отдельно указывается:

- фамилия, имя, отчество полностью,
- ученая степень, ученое звание,
- должность, место и полный почтовый адрес работы,
- адреса электронной почты,
- ORCID iD (Open Researcher and Contributor iD),
- контактные номера телефонов (мобильные и рабочие).

Отдельно указывается автор, ответственный за переписку и автор (поручитель), ответственный за целостность работы как таковой (по умолчанию, это одно лицо, если не указано иное).

3. *Материалы представляется в формате *.doc, *.docx 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):

•шифр и наименование специальности, по которой выполнена представляемая работа;

•УДК (указывается только в реферате на русском);

•название статьи (НЕ ДОПУСКАЕТСЯ использование только ЗАГЛАВНЫХ букв) – должно точно отражать содержание статьи;

•фамилия, а затем инициалы автора (ов);

•полное название и полный почтовый адрес учреждений, в которых выполнена работа.

Не следует указывать универсальные префиксы, говорящие о форме собственности, организационно-правовых и иных неспецифических особенностях данного заведения (например, ГБОУ, ВПО, ФГБУ и т.д.).

После указания полного названия учреждения в скобках приводится аббревиатура с его общепринятым сокращением, *например*:

Курский государственный медицинский университет (КГМУ),

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

Англоязычный вариант:

Kursk State Medical University (KSMU),
3, K. Marx st., Kursk, Kursk region,
305041, Russian Federation

При наличии нескольких – в верхнем регистре арабскими цифрами указывается принадлежность авторов соответствующим организациям/подразделениям;

•контактный e-mail автора, осуществляющего переписку (указывается только в реферате на русском);

•аннотация;

•ключевые слова (keywords) или словосочетания через точку с запятой (до 7).

Аннотации должны быть объемом от 150 до 250 слов, в общих чертах соответствовать структуре статьи и представлять собой связанный структурированный текст со следующими подзаголовками: **Цель (Objective), Материалы и методы (Materials and methods), Результаты (Results), Заключение (Conclusion)**. 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. *Текст статьи* приводится на следующей за англоязычной версией реферата странице.

При этом еще раз, но уже ЗАГЛАВНЫМИ буквами, на двух языках дублируется название статьи.

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 тексте статьи могут быть использованы только следующие подзаголовки: «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ», «РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ», «КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ» (на русском и английском языках), «ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ» (на русском и английском языках), «ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ» (на русском и английском языках), «СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ» (на русском и английском языках), «ЛИТЕРАТУРА».

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» (см. п. 14 настоящих Правил), для чего необходимо заручиться письменным согласием перечисляемых лиц (в редакцию не предоставляется).

6. *Микрофотографии и рисунки.* После каждого изображения в тексте статьи должна быть общая

подпись и объяснения всех кривых, букв, цифр и прочих сокращений, выполненные на двух языках: русском и английском. В подписях к микрофотографиям необходимо указывать увеличение и метод окраски или импрегнации.

Иллюстрации должны быть ясными и разборчивыми, а обозначения на них – контрастными и четко идентифицируемыми.

Отдельными файлами в форматах .jpg, .png или .tiff с разрешением не менее 300 dpi в редакцию также предоставляются исходные версии иллюстраций без каких-либо обозначений на них.

Число рисунков к статьям не должно превышать 5. Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. К каждому графику прилагаются цифры для его построения.

Если иллюстрация создана с помощью специализированных программ, таких как Microsoft Excel, Microsoft Word, Microsoft PowerPoint, LibreOffice Adobe Photoshop, GIMP и др., то в редакцию предоставляется исходный файл (например, формата .xls, .xlsx) с возможностью внесения изменений и редактирования оформления рисунка.

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.

В таблицах сразу же после русскоязычного текста также приводится перевод на английский язык всех заголовков, цифр, единиц измерения и т.д.

8. *Сокращение слов в статье* 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. *Литература / References*

Список литературы приводится в виде полного библиографического описания работ в порядке цитирования. Список литературы оформляется согласно стилю «Vancouver», **правила оформления списка литературы можно скачать на официальном сайте журнала: <https://www.kursk-vestnik.ru/> (в разделе «Правила для авторов».**

При оформлении ссылок в начале цитируемой работы указываются ВСЕ АВТОРЫ! Обязательным является указание DOI, EDN и/или URL при его наличии у статьи.

НЕ ДОПУСКАЮТСЯ ссылки на материалы конференций, диссертации, авторефераты диссертаций, неопубликованные работы и другие нерцензуемые источники.

Ответственность за правильность и точность библиографических данных возлагается на автора.

10. *Конфликт интересов / Conflict of interest*

После изложения результатов исследования и их обсуждения авторы указывают наличие/отсутствие так называемого конфликта интересов, то есть условий и фактов, способных повлиять на результаты исследования (например, финансирование от заинтересованных лиц и компаний, их участие в обсуждении результатов исследования, написании рукописи и т.д.).

При отсутствии таковых использовать следующую формулировку: «Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи» (The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article).

Данный подраздел приводится на двух языках: русском и английском.

11. *Личный вклад авторов / Authors contribution*

Если в авторском списке представлено **более 1 автора**, обязательно указание вклада в данную работу каждого автора, например: разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи и т.д.

Данный подраздел приводится на двух языках: русском и английском.

12. *Источники финансирования / Source of financing*

Необходимо указывать источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется. При отсутствии источника финансирования использовать следующую формулировку: «Авторы заявляют об отсутствии финансирования» (The authors state that there is no funding for the study).

Данный подраздел приводится на двух языках: русском и английском.

13. *Соответствие принципам этики / Conformity with the principles of ethics*

В случае если направляемая на публикацию работа выполнена с участием людей и/или животных, в данном разделе необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, номера протокола и даты заседания комитета).

При проведении научно-исследовательских проектов с участием людей испытуемые должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие.

Данный подраздел приводится на двух языках: русском и английском.

14. *Благодарности*

Все члены коллектива, не отвечающие критериям авторства, должны быть перечислены с их согласия с подзаголовком «БЛАГОДАРНОСТИ».

15. Авторское соглашение

В редакцию предоставляется скан-копия Авторского соглашения в формате PDF по форме, представленной на сайте журнала.

Если авторы представляют различные учреждения и/или получение подписей всех авторов одновременно сопряжено со значительными трудностями, допустимо прислать Авторское соглашение частями. При этом указанные части должны быть идентичны друг другу, включать все пункты настоящего Авторского соглашения и могут отличаться только последним пунктом – составом подписей соавторов. Иными словами, каждый из авторов должен быть ознакомлен со всеми пунктами настоящего Авторского соглашения, в чем редакция должна быть уверена благодаря получению от всех соавторов заполненного и подписанного (либо отдельно, либо коллективно) соглашения.

16. Рецензирование

Присланные материалы обязательно проходят процедуру внешнего рецензирования, являющегося конфиденциальным. При несогласии с мнением рецензента, авторы вправе изложить мотивированный ответ на рецензию.

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 потребует, 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 редколлекцией. 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. Журнал предоставляет приоритет для аспирантских и докторских работ, срок их публикации зависит от предполагаемой даты защиты, которую авторы должны указать в первичных документах, прилагаемых к рукописи.

Периодичность издания журнала – 4 раза в год.

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. 9,5.
Тираж 1000 экз.

Подписано в печать 25.12.2024.
Отпечатано в типографии КГМУ.
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Заказ № 28(Г).