ISSN 2225-6016

# ВЕСТНИК

## *Смоленской государственной медицинской академии*

*Том 22, №4*

2023

**ВЕСТНИК СМОЛЕНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**
**2023, Т.22, №4**

**Рецензируемый научно-практический журнал**
**Основан в 2002 году**

**Учредитель**
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Смоленский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)**
Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-67864 от 06 декабря 2016 г.
ISSN 2225-6016

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых изданий,
в которых должны быть опубликованы основные результаты
диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук,
на соискание учёной степени доктора наук.
(Распоряжение Минобрнауки России от 28.12.2018 г. №90)

Журнал включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)

**Подписка на печатную версию** – индекс издания по каталогу агентства «Пресса России» 43 864э

**Подписка на электронную версию** – http://elibrary.ru

**Официальный сайт журнала** – http://sgma.info

**Адрес редакции и издателя**
214019, Россия, Смоленская область, Смоленск, ул. Крупской, 28
Смоленский государственный медицинский университет
Тел.: (4812) 55-47-22, факс: (4812) 52-01-51
E-mail: dr.danandr@yandex.ru, hypoxia@yandex.ru

16+

Дата выхода 15.12.2023 г.
Формат 60×84/8. Гарнитура «Times»
Тираж 900 экз.

Цена свободная (отпускается по подписке)

**Отпечатано:**
в ООО «СГТ»
214000, г. Смоленск, ул. Маршала Жукова, 16
Тел.: (4812) 38-28-65, (4812) 38-14-53

**Главный редактор**

Р.С. Козлов,
член-корреспондент РАН, докт. мед. наук, профессор,
ректор Смоленского государственного медицинского университета

**Административная группа:**

В.В. Бекезин, докт. мед. наук, проф., зам. главного редактора
А.И. Данилов, канд. мед. наук, зам. главного редактора
А.В. Евсеев, докт. мед. наук, проф., зам. главного редактора

**Редакционная коллегия:**

А.В. Авчинников, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); И.И. Балаболкин, чл.-корр. РАН, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); Р.С. Богачёв, докт. мед. наук, проф. (РФ, Калининград); А.В. Борсуков, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); И. Вавер, докт. фармац. наук, проф. (Польша, Варшава); В.А. Глотов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); В.В. Давыдов, докт. мед. наук, проф. (Украина, Харьков); А.И. Данилов, канд. мед. наук, доц. (РФ, Смоленск); С.Н. Дехнич, канд. мед. наук, доц. (РФ, Смоленск); В.В. Зинчук, докт. мед. наук, проф. (Республика Беларусь, Гродно); Г.М. Кавалевский, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); Е.И. Каманин, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); Н.А. Коваль, докт. психол. наук, проф. (РФ, Тамбов); О.В. Козлов, докт. истор. наук, проф. (РФ, Смоленск); О.Е. Коновалов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); А.В. Крикова, докт. фарм. наук, доц. (РФ, Смоленск); З.А. Лемешко, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); С.О. Лосенкова, докт. фарм. наук, доц. (РФ, Смоленск); Л.Л. Лямец, канд. техн. наук, доц. (РФ, Смоленск); Ю.И. Ломаченко, докт. мед. наук, доц. (РФ, Смоленск); Б.Ш. Минасов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Уфа); А.М. Миронов, докт. мед. наук, проф. (Италия, Милан); Д.С. Михалик, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); Т.Г. Морозова, докт. мед. наук, доц. (РФ, Смоленск); Д.В. Нарезкин, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); В.Е. Новиков, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); В.М. Остапенко, докт. мед. наук, доц. (РФ, Санкт-Петербург); А.А. Очкуренко, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); Т.А. Панкрушева, докт. фарм. наук, проф. (РФ, Курск); Л.С. Персин, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); В.А. Переверзев, докт. мед. наук, проф. (Республика Беларусь, Минск); А.Ю. Петренко, докт. мед. наук, проф. (Украина, Харьков); И.А. Платонов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Смоленск); Л.С. Подымова, докт. пед. наук, проф. (РФ, Москва); В.Н. Покусаева, докт. мед. наук, доц. (РФ, Смоленск); В.Н. Прилепская, докт. мед. наук, проф. (РФ, Москва); В.В. Рафальский, докт. мед. наук, проф. (РФ, Калининград); Т.В. Русова, докт. мед. наук, проф., (РФ, Иваново); В.Г. Сапожников, докт. мед. наук, проф. (РФ, Тула); В.А. Снежицкий, докт. мед. наук, проф. (Республика Беларусь, Гродно); В.Н. Трезубов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Санкт-Петербург); Т. Ульрих, докт. мед. наук, проф. (Германия, Берлин); Г. Хан, докт. мед. наук, проф. (Германия, Берлин); П.Д. Шабанов, докт. мед. наук, проф. (РФ, Санкт-Петербург);
А.Т. Щастный, докт. мед. наук, доц. (Республика Витебск); А. Ювко, докт. хим. наук, проф. (Польша, Седлице)

**Редакторы**

М.А. Евсеева, В.Ю. Кирсанова

**Отв. за on-line версию**

И.М. Лединников

# СОДЕРЖАНИЕ


**МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**

*ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ*

Мамина Н.Ш., Байрамов А.А., Каронова Т.Л., Тимкина Н.В., Амрахов М.В., Кузнецова Н.Н., Шабанов П.Д. Оценка эффективности антиостеопорозного препарата в активации цитокиновой системы rankl/opg в модели экспериментального остеопороза и сахарного диабета 2 типа 5

Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Клиническая и расчетная эффективность сукцинатсодержащих препаратов при лечении больных с астеническим синдромом 13

Бузник Г.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Сукцинатсодержащие препараты в терапии астенических расстройств вследствие перенесенной травмы головного мозга 20

Шаталова Р.О., Захарова М.В., Колосова Е.С., Позднякова-Филатова И.Ю., Тарлачков С.В., Нагорных М.О. Получение геномных библиотек после насыщающего транспозонного мутагенеза для поиска генов, влияющих на жизнеспособность антибиотикорезистентных бактерий E. coli 28

*ОБЗОРЫ*

Быков Ю.В., Батурин В.А. Нейроспецифические белки как маркеры повреждения головного мозгапри сахарном диабете 36

Бонь Е.И., Максимович Н. Е., С.М. Зиматкин, Белоконь С.С., Н.В. Кохан, Петухов З.А. Протеасомная система клетки. участие в протеосом патогенезе заболеваний 43

Данилов А.И., Сливкин М.Д., Фоминых С.Г., Трубина Л.В. Принципы выбора антимикробной терапии при инфекционном эндокардите в условиях отсутствия выделения этиологически значимых возбудителей 51

Петров В.И., Шаталова О.В., Стецкий Н.П., Клыкова М.С., Комиссарова И.А. Применение пероральных антикоагулянтов у пациентов с Covid-19: актуальные концепции и противоречия 56

**КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА**

*ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ*

Горбачева Е.М., Ильюшина И.В., Слончакова Д.М., Шадрина Н.Е., Дехнич Н.Н., Пунин А.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и хронические бронхолегочные заболевания. необходимость проведения 24-часовой ph-импедансометрии 64

Шнырёва А.В., Царёва В.М., Рогутский Б.С. Клинический случай идиопатической легочной гипертензии 71

Жесткова Т.В., Есакова Е.М., Ефанова Л.В., Крютченко Е.П., Разживина Е.Г. Гастрит и дуоденит в амбулаторной практике как отражение симптомов диспепсии 80

Игнатенко Г.А., Мухин И.В., Сочилин А.В. Динамика желудочковых нарушений ритма на фоне реабилитационных мероприятий у гипертензивных больных хронической обструктивной болезнью легких пылевой этиологии 86

Мухин И.В., Зубрицкий К.С., Миминошвили В.Р. Коррекция электрической нестабильности миокарда при желудочковых нарушениях ритма у больных сахарным диабетом 2-го типа 93

Гуляева-Сельцовская Е.П., Дхиф И., Молс А.А., Симонян А.О., Чомахидзе П.Ш., Копылов Ф.Ю., 100


# CONTENTS


**MEDICO-BIOLOGICAL SCIENCES**

*ORIGINAL ARTICLES*

Mamina N.Sh., Bairamov A.A., Karonova T.L, Timkina N.V., Amrakhov M.V., Kuznetsova N.N., Shabanov P.D. Evaluation of the effectiveness of anti-osteoporosis drug in the activation of the rankl/opg cytokine system in experimental model of osteoporosis and in combination with diabetes mellitus type 2

Buznik G.V., Shabanov P.D. Clinical and estimated effectiveness of succinate-containing drugs in the treatment of patients with asthenic syndrome

Buznik G.V., Zarubina I.V., Shabanov P.D. Succinate-containing preparations in the therapy of asthenic disorders due to brain trauma

Shatalova R.O., Zakharova M.V., Kolosova E.S., Pozdnyakova-Filatova I.Y., Tarlachkov S.V., Nagornykh M.O. Preparation of genomic libraries after saturating transposon mutagenesis to search for genes affecting the fitness cost of antibiotic-resistant bacteria E. coli

*REVIEWS*

Bykov Yu.V., Baturin V.A.. Neuron-specific proteins as markers of brain damage in diabetes mellitus

Bon E.I, Zimatkin S.M., Maksimovich N.Ye., Kokhan N.V., Petuhov Z.A., Kokhan N.V. Proteasome system of the cell. participation in proteasome pathogenesis of diseases

Danilov A.I., Slivkin M.D., Fomin S.G., Trubinal L.V. Principles of choosing antimicrobial therapy for infective endocarditis in the absence of etiologically significant pathogens

Petrov V.I., Shatalova O.V., Stetsckiy N.P., Klikova M.S., Komissarova I.A. Use of oral anticoagulants in patients with Covid-19: current searches and contradictions

**CLINICAL MEDICINE**

*ORIGINAL ARTICLES*

Gorbacheva E.M., Ilyushina I.V., Slonchakova D.M., Shadrina N.E., Dekhnich N.N., Punin A.A. Gastroesophageal reflux disease and chronic bronchopulmonary diseases. the need for 24-hour ph impedance measurement

Shnyreva A.V., Tsareva V.M., Rogutsky B.S. Clinical case of idiopathic pulmonary hypertension

Zhestkova T.V., Esakova E.M., Efanova L.V., Kryutchenko E.P., Razzhivina E.G. Gastritis and duodenitis in outpatient practice as a reflection of dyspepsia symptoms

Ignatenko G.A., Mukhin I.V., Sochilin A.V. Dynamics of ventricular rhythm disorders during rehabilitation measures in hypertensive patients with chronic obstructive pulmonary disease of dust etiology

Mukhin I.V., Zubritsky K.S., Miminoshvili V.R. Correction of myocardial electrical instability in ventricular rhythm disorders with type 2 diabetes mellitus

Gulyaeva-Seltsovskaya E.P., Dhif I., Mols A.A., Simonyan A.O., Chomakhidze P.Sh., Kopylov F.Yu., Komarov R.N.

Комаров Р.Н. Пароксизмы фибрилляции предсердий при плановых кардиохирургических вмешательствах в условиях искусственного кровообращения
Paroxysms of atrial fibrillation during planned cardiac surgery under cardiopulmonary bypass

Эмомзода И.Х., Одинаев Ш.Ф., Раджабзода М.Э., Файзуллоев Х.Т., Турсунов Р.А. Состояние сердечно-сосудистой системы у пациентов с анемическим синдромом
107 Emomzoda I.Kh., Odinaev Sh.F., Rajabzoda M.E., Faizulloev H.T., Tursunov R.A. Condition of the cardiovascular system in patients with anemic syndrome

Гвоздева А.Д., Филатова А.Ю., Свирида О.Н., Соболевская М.С., Закиев В.Д., Агеева С.Ф., Масенко В.П., Агеев Ф.Т., Овчинников А.Г. Влияние сакубитрила/валсартана на системные маркеры воспаления и развития фиброза у пациентов с снсфв и выраженной гипертонической гипертрофией левого желудочка
113 Gvozdeva A.D., Filatova A.Yu., Svirida O.N., Sobolevskaya M.S., Zakiev V.D.,Ageeva S.F., Masenko V.P., Ageev F.T., Ovchinnikov A.G. Effect of sacubitril/valsartan on systemic markers of inflammation and fibrosis development in patients with hfpef and advanced left ventricular hypertrophy

Удовенко А.А., Шестакова В.Н., Евсеев В.А., Сосин Д.В., Глущенко В.А., Морозова А.А., Индюкова Е.Д., Лямец Л.Л. Показатели электоэнцефалографии детей, воспитывающихся в учреждениях социальной сферы, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию
125 Udovenko A.A., Shestakova V.N., Evseev A.V., Sosin D.V., GlushchenkoV.A., Morozova A.A., Indyukova E.D., Lyamec L.L. Electroencephalography indicators of children who have suffered chronic intrauterine hypoxia and are brought up in social institutions

Осовецкая Ю.Л., Кильдиярова Р.Р., Легонькова Т.И., Червякова Я.И., Штыкова О.Н. Особенности язвенной болезни у подостков на фоне дисплазии соединительной ткани
133 Osovetskaya Yu.L., Kildiyarova R.R., Legonkova T.I., Chervyakova Ya.I., Shtykova O.N. Features of peptic ulcer in adolescents against the background of connective tissue dysplasia

Султанов И.С., Бобошко И.Е. Характеристика физического и нервно-психического развития детей дошкольного возраста с хроническим аденоидитом
139 Sultanov I.S., Boboshko I.E. Characteristics of the physical and neuro-mental development of preschool children with chronic adenoiditis

Лабузов Д.С., Степанов В.Н., Абросимова Т.Н., Киселёв И.Г., Мельникова В.М., Артёменкова Е.И. Заворот блуждающей селезёнки с её некрозом у ребёнка
145 Labuzov D.S., Stepanov V.N., Kiselev I.G., Abrosimova T.N., Melnikova V.M., Artyomenkova E.I. Wandering spleen torsion with necrosis in children

Лозбенев Ф.С., Морозова Т.Г. Магнитно-резонансная томография как диагностическая ступень в оценке алкогольной природы диффузных заболеваний печени
151 Lozbenev F.S., Morozova T.G. Magnetic resonance imaging as a diagnostic step in the assessment of the alcoholic nature of diffuse liver diseases

*ОБЗОРЫ*

*REVIEWS*

Разуваева Ю.Ю., Леднева В.С., Леонова В.В., Леонов С.А., Ульянова Л.В., Разуваев О.А. Ларингофарингеальный рефлюкс у детей, взрослых и паллиативных пациентов: проблемы и перспективы диагностики
160 Razuvaeva Yu.Yu., Ledneva V.S., Leonova V.V., Leonov S.A., Ulianova L.V., Razuvaev O.A. Laryngopharyngeal reflux in children, adults and palliative patients: problems and prospects of diagnostics

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

*ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ*

## PHARMACEUTICAL SCIENCES

*ORIGINAL ARTICLES*

Полковникова Ю.А. Изучение характеристик адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа
170 Polkovnikova Yu.A. Studying characteristics of adsorption of vinpocetene on colloid particles of iron hydroxide sol

Хамидов М-Э.Х., Огай М.А., Лосенкова С.О., Абисалова И.Л. Фармакологические исследования сиропа азоксимера бромида
177 Khamidov M-E.Kh., Ogai M.A., Losenkova S.O., Abisalova I.L. Pharmacological studies of azoximer bromide syrup

Хабиева Н.А., Люст Е.Н., Тимерзянов М.И. Разработка методик изолирования карбамазепина из биологических объектов
186 Habieva N.A., Lyust E.N., Timerzyanov M.I. Development of methods for isolating carbamazepine from biological objects

Гуляев Д.К., Белоногова В.Д., Крылова И.Д., Юлмухаметова Г.Р., Курбанова Ч.С. Исследование биологически активных веществ и антиагрегантной активности подземных органов малины обыкновенной (*Rubus idaeus L.*)
193 Guljaev D.K., Belonogova V.D., Krylova I.D., Julmuhametova G.R., Kurbanova Ch.S. Investigation of biologically active substances and antiplatelet activity of underground organs of raspberries (*Rubus idaeus L.*)

Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Колотнева А.И. Разработка и валидация методики количественного определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной
199 Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Kolotneva A.I. Development and validation of methods for quantitative determination of carotenoids and chlorophylls of sea buckthorn leaves

Макарова Д.Ю., Новикова Е.К., Александрова Л.Ю. Методология поверхности отклика в количественном определении полисахаридов в корнях купены лекарственной
208 Makarova D.Yu., Novikova E.K., Alexandrova L.Yu. Response surface methodology in the quantitative determination of polysaccharides in the roots of the polygonatum officinale

Пугачева О.В., Тринеева О.В., Панова К.Е. Валидация методики количественного определения антоцианов в
214 Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Panova K.E. Validation of a method for the quantification of antocianins in aronia

аронии мичурина листьях
Шмыгарева А.А., Куркин В.А., Лабковская М.В., Дорохина О.А., Кочукова А.А. Разработка методики получения и стандартизации настойки на основе лекарственного растительного сырья 223
Черемных Е.В., Зорина Е.В., Белоногова В.Д. Влияние биостимуляции травы манжетки обыкновенной свежей на химический состав и антиоксидантную активность сока 229

**ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ, ОРГАНИЗАЦИЯ И СОЦИОЛОГИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

Санников А.Л., Пономарёв А.С., Зеленых Д.В. Эпидемиологический анализ злокачественных новообразований в Псковской области 236

**РАЗНОЕ**

Ulasen T.V., Starodubtsev N.N., Krikova A.V., Zaitseva V.M. Significance of psychological studies in assessment of stress tolerance and social frustration in medical and pharmaceutical students and in management of pharmacies' teams 246

michurina leaves
Shmygareva A.A., Kurkin V.A., Labkovskay M.V., Dorokhin O.A., Kochukova A.A. Development of methods for obtaining and standardizing tinctures based on medicinal plant raw materials
Cheremnykh E.V., Zorina E.V., Belonogova V.D. Biostimulation of fresh herbs *Alchemilla vulgaris* and its effect on the chemical composition and antioxidant activity of juice

**PUBLIC HEALTH, ORGANIZATION AND SOCIOLOGY OF HEALTHCARE**

Sannikov A.L., Ponomarev A.S., Zelenykh D.V. Epidemologic analysis of malignant neoplasms in the Pskov region

**MISCELLANEA**

Уласень Т.В., Стародубцев Н.Н., Крикова А.В., Зайцева В.М. Значимость психологии в изучении стрессоустойчивости и социальной фрустрированности у обучающихся медицинского вуза и в управлении фармацевтическим коллективом

## МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 612.8, 616* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.1 EDN: ADTTBI*

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОСТЕОПОРОЗНОГО ПРЕПАРАТА В АКТИВАЦИИ ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ RANKL/OPG В МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

**© Мамина Н.Ш.[2], Байрамов А.А.[1,2], Каронова Т.Л.[1], Тимкина Н.В.[1], Амрахов М.В.[2], Кузнецова Н.Н.[2], Шабанов П.Д.[2]**

[1]*Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Россия 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2*

[2]*Институт экспериментальной медицины, Россия 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12*

*Резюме*

**Цель.** Целью исследования являлась оценка процессов остеогенеза согласно уровню маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови на этапах терапии экспериментального остеопороза и в его сочетании с моделью сахарного диабета 2 типа.

**Методика.** Исследование выполнено на экспериментальной модели остеопороза у 50 самок крыс с последующей индукцией у части исследуемых животных диабета 2 типа и применением биохимических методов для анализа маркеров остеопороза в сыворотке крови.

**Результаты**. По результатам исследования содержания маркеров костного ремоделирования выявлена зависимость антиостеопорозной активности композитного препарата на основе солей янтарной кислоты от нарушения обмена глюкозы при СД. Высокая эффективность нового препарата относительно активации процессов остеогенеза в виде монотерапии и в его комбинации с витамином Д3 при экспериментальном остеопорозе была нивелирована нарушением углеводного обмена вследствие индукции диабета 2 типа.

**Заключение**. Показана высокая эффективность нового антиостеопорозного препарата в активации процессов остеогенеза на экспериментальной модели остеопороза у самок крыс и зависимость его фармакологической эффективности от нарушений обменных процессов на примере диабета 2 типа.

*Ключевые слова:* остеопороз, экспериментальная модель, костное ремоделирование, маркеры остеогенеза, антиостеопорозное средство, сахарный диабет 2 типа

# EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF ANTI-OSTEOPOROSIS DRUG IN THE ACTIVATION OF THE RANKL/OPG CYTOKINE SYSTEM IN EXPERIMENTAL MODEL OF OSTEOPOROSIS AND IN COMBINATION WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

Mamina N.Sh.[2], Bairamov A.A.[1, 2], Karonova T.L[1], Timkina N.V.[1], Amrakhov M.V.[2], Kuznetsova N.N.[2], Shabanov P.D.[2]

[1]*Almazov National Medical Research Centre, 2, Akkuratova St., 197341, St. Petersburg, Russia*

[2]*Institute of Experimental Medicine, 12, Acad. Pavlova St., 197022, St. Petersburg, Russia*

*Abstract*

**Objectives**. The purpose of the study was to evaluate the processes of osteogenesis, according to the assessment of markers of bone remodeling in blood serum at the stages of treatment of experimental osteoporosis and in its combination with a model of type 2 diabetes mellitus

**Methods.** The study was carried out on an experimental model of osteoporosis in 50 female rats, followed by the induction of type 2 diabetes in some of these rats, using biochemical methods to analyze markers of osteoporosis in blood serum.
**Results.** Based on the results of the study of the content of bone remodeling markers, a dependence of the anti-osteoporosis activity of a composite drug based on succinic acid salts on impaired glucose metabolism in diabetes was revealed. The new drug is highly effective in monotherapy and in combination with vitamin D3 in activating osteogenesis processes in experimental osteoporosis was leveled by metabolic disorders and induction of type 2 diabetes.
**Conclusion.** The new drug was shown to be highly effective in activating osteogenesis processes in an experimental model in female rats and the dependence of the pharmacological effectiveness of the anti-osteoporosis drug on metabolic disorders such as type 2 diabetes.
*Keywords:* osteoporosis, experimental model, bone remodeling, osteogenesis markers, anti-osteoporosis agent, type 2 diabetes

## Введение

Остеопороз – прогрессирующее системное заболевание скелета, характеризующееся снижением минеральной плотности кости, нарушением ее микроархитектоники, приводящее к увеличению хрупкости костной ткани и повышению вероятности переломов [8]. Ввиду отсутствия патогномоничных клинических проявлений костной дистрофии в начале заболевания, оно длительное время остается «безмолвным». Однако, по мере инициации осложнений, создаются высокие социальные и личные издержки [19]. По данным International Osteoporosis foundation (IOF) (2010) остеопорозом страдают около 75 млн. человек в Европе, США и Японии. В России этот показатель составляет 14 млн. человек [10, 22]. Этиология остеопороза имеет гетерогенную природу и обусловлена влиянием множества факторов эндогенной и экзогенной природы, а чаще их совокупностью [11]. Факторы риска так же подразделяются на модифицируемые и немодифицируемые [24]. Вес, курение, употребление алкоголя, низкая физическая активность, алиментарный дефицит кальция, длительный прием глюкокортикоидов входят в группу регулируемых факторов риска. Пол, возраст, этническая принадлежность и генетические полиморфизмы относятся к неизменным факторам риска. В связи с чем, популяция охваченная риском возникновения костной дистрофии неуклонно увеличивается. Ухудшение эпидемиологической ситуации по остеопорозу и прогнозируемый рост числа пациентов связывают с увеличением доли лиц пожилого и старческого возраста в структуре населения во всем мире и в нашей стране, в частности. Согласно статистическим прогнозам, влияние тенденции общемирового постарения населения к 2050 г. приведет к увеличению частоты патологических переломов, например шейки бедра, в два раза [24].

Ожидаемая продолжительность жизни в РФ к 2035 г. увеличится до 77,13 г. [4], в связи с чем, у мужчин число случаев перелома проксимального отдела бедренной кости вырастет на 36%, у женщин на 43% [9]. По данным Международного фонда остеопороза начиная с возраста 50 лет, одна из трех женщин и один из пяти мужчин в течение оставшейся жизни перенесут остеопоротический перелом [8].

Несмотря на многочисленность протоколов терапии нарушений фосфорно-кальциевого обмена, не теряет своей актуальности проблема поиска новых высокоэффективных препаратов и, как следствие, снижение количества осложнений и летальных исходов в целевых группах населения. Недостаточную эффективность предложенных программ профилактики и лечения остеопороза можно связать со сложностью его патогенеза, не ограничивающегося одним лишь дефицитом кальция [6]. Поэтому, для эффективной коррекции нарушений фосфорно-кальциевого обмена необходимо использовать терапевтические подходы, создаваемые в континууме механизмов регуляции обменных процессов и патофизиологии развития остеопороза [17].

Новым подходом в профилактике и лечении сенильного и постменопаузального остеопороза, состояний, обусловленных дефицитом витамина Д, является применение в лекарственной терапии комплекса кислых солей янтарной кислоты (КСЯК). Из природных субстратов-метаболитов – кислые соли сукцината являются наиболее сильными модуляторами орфановых рецепторов и рецепторов SUNCR1, кальциевых каналов L-типа Спектр действия КСЯК включает в себя потенцирование усвоения макро- и микроэлементов костной тканью, улучшение метаболизма витамина Д с повышением биодоступности его активных форм в организме [3, 16, 18].

Эффективность антиостеопорозной терапии нередко зависит от наличия сопутствующих заболеваний, в том числе и сахарного диабета 2 типа. Наряду с тем, что СД сам по себе является

независимым фактором риска переломов [24], его осложнения могут вызвать устойчивое нарушение обменных процессов в костной ткани [20] и снизить эффективность патогенетической антирезорбтивной терапии. Не вызывает сомнений, что создание и исследование специфической фармакологической активности препаратов на основе уникальных биологически активных соединений имеет высокую клиническую значимость. Биохимическое исследование маркеров системного костного метаболизма в свою очередь является информативным критерием оценки их эффективности на доклиническом этапе.

Целью исследования являлась оценка процессов остеогенеза согласно уровню маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови на этапах терапии экспериментального остеопороза и в его сочетании с моделью сахарного диабета 2 типа.

## Методика

Объектом исследования являлся создаваемый лекарственный препарат на основе солей янтарной кислоты, средство для лечения остеопороза (далее – препарата Х3, патент на изобретение RU 2582973C1) [15].

Метод создания экспериментальной модели остеопороза. Суть метода заключается в двустороннем хирургическом удалении яичников у самок крыс, с последующим двукратным введением преднизолона. Для эксперимента были использованы интактные самки крыс линии Вистар 8-10 месячного возраста весом 240-260 г. Двусторонняя овариоэктомия проведена в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве Бунока (1968). Животных наркотизировали эфиром и фиксировали на операционном столе в положении на животе. Шерсть на спинке от тазовой области до реберной дуги выстригали, кожу обрабатывали спиртом и разбавленным спиртовым раствором йода. Скальпелем делали продольный разрез длиной 1,5-2,0 см по средней линии спины. Передвигая разрез, поочередно, налево и направо делали прокол в задней части брюшной полости. Найдя правый или левый рог матки, выводили его через прокол наружу, находили яичник и электокаутером отсекали его от рога матки. Аналогично удаляли и второй яичник. Проколы брюшины и надрез спины обрабатывали стрептоцидом. Ушивали спинной разрез и шов обрабатывали 5% йодной настойкой. После операции животных помещали в чистую клетку, в течение первых 4-5 дней проводили ежедневную обработку раны дезинфицирующими средствами. Заживление раны произошло на 7-9 день. Через 3 недели после операции самкам крыс вводили р-р преднизолона в дозе 25 мг/кг в/б. Второе введение производилось с интервалом в 15 дней [1, 7, 17].

Моделирование сахарного диабета. Для моделирования СД через 4 нед. от начала содержания на высокожировой диете и через 2 недели после ОЭ внутрибрюшинно вводился раствор никотинамида 230 мг/кг. Данная методика описана ранее российскими исследователями [19, 20, 21]. На 2-е и 3-и сутки в случайной точке определялся уровень глюкозы в венозной крови. СД диагностировался при гликемии, равной или более 11,1 ммоль/л, зафиксированной в двух измерениях в разные дни. В ходе теста уровень гликемии определялся исходно, после чего с помощью желудочного зонда перорально вводился 40% раствор глюкозы 3 г/кг. Повторное измерение гликемии проводилось на 15, 30, 60 и 120-й мин. теста. СД диагностировался при выявлении гликемии, равной или более 11,1 ммоль/л в любой из точек [21]. Назначение препаратов и наблюдение за животными продолжались еще 6 нед., суммарная длительность исследования – 12 нед.

Биохимическое исследование маркеров системного костного метаболизма. Во всех группах производился забор крови из нижней полой для определения маркеров костного ремоделирования, отражающих процессы остеогенеза и резорбции костной ткани - остеопротегерина (OPG) и лиганд активатора ядерного фактора каппа-β (RANKL) методом иммуноферментного анализа (ИФА) и рассчитан коэффициент их соотношения OPG/RANKL.

Исследование входит в комплекс доклинических исследований, необходимых для регистрации продукта и направлено на установление свойства тестируемого объекта при многократном пероральном введении в фиксированной дозе (62,5 мг/кг, композит без лекарственной основы). Исследование проводилось в соответствии со стандартами лабораторных исследований GLP в Центре доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ.

## Результаты исследования и их обсуждение

Как видно из рис. 1, продукция лигандов рецептора RANKL при формировании остеопороза повышается, отражая процессы активации резорбции костной ткани, и, соответственно, в большем количестве попадает в циркулирующую кровь.

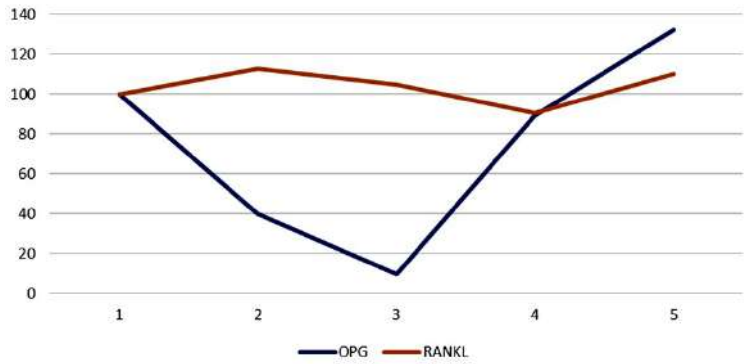



Рис. 1. Динамика маркеров остеопороза в сыворотке крови самок крыс с экспериментальным остеопорозом при фармакотерапии антиостеопорозным препаратом (Х3) и в сочетании с $Д_3$. Данные интактных крыс приняты за 100%. 1 – интактная; 2 – контроль О/Э; 3 – контроль О/П; 4 – О/П+Х3; 5 – О/П+Х3+D3

Наряду с этим, отмечается достоверное и многократное падение уровня остеопротегерина в крови. В дальнейшем, на этапе медикаментозной коррекции, содержание RANKL в крови уменьшается, что свидетельствует о снижении его выработки остеобластами на фоне стимуляции остеокластогенеза посредством продукции OPG. Необходимо отметить, что более резкое снижение OPG происходит непосредственно после овариоэктомии, что свидетельствует о гормонозависимом характере этого процесса. Назначение препарата Х3 восстанавливает исходный уровень OPG в крови. Комбинация препарата Х3 с витамином D3 вызывает еще более значительное достоверное повышение концентрации OPG, по сравнению с интактной группой, что в свою очередь приводит к закономерному снижению концентрации RANKL в крови.

Как было описано в методике, у части экспериментальных животных была сформирована сочетанная патология остеопороза и сахарного диабета 2 типа, с целью выяснения эффективности антиостеопорозной терапии на фоне нарушения углеводного обмена. Поученные данные, приведенные на рис. 2, показывают, что у группы СД2–ОП+Х3+D3 проводимая антиостеопорозная терапия в дозе 62,5 мг, усиленная добавлением в схему лечения витамина D3 в дозе 500 МЕ на кг веса крысы в незначительной степени повлияла на коррекцию экспериментального остеопороза. Так, только у RANKL отмечали достоверное снижение его уровня, что предполагает падение активности остеокластов. Уровень OPG остался индифферентным к проводимой фармакотерапии препаратом Х3 и в сочетании Х3 с холекальциферолом.

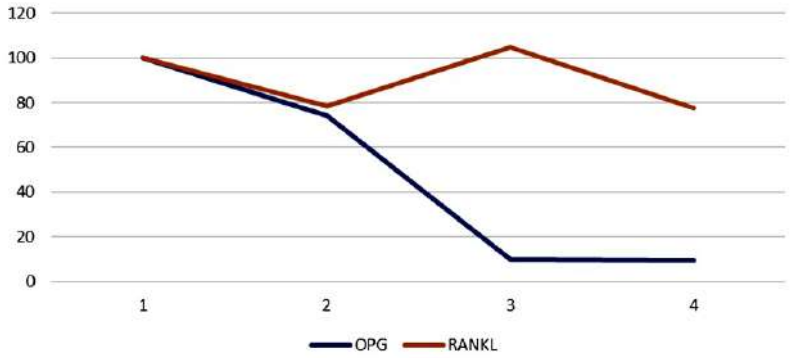



Рис. 2. Оценка динамики костного ремоделирования на фоне применения антиостеопорозного препарата (Х3) в экспериментальной модели остеопороза, осложненной сахарным диабетом 2 типа. Данные интактных крыс приняты за 100%. 1 – интактная; 2 – контроль СД 2; 3 – контроль О/П; 4 – СД2+О/П+Х3+D3

Основываясь на полученных результатах, были проанализирована динамика соотношения OPG/RANKL между контрольной группой животных и группами с индуцированными остеопорозом, сахарным диабетом и их сочетанием на фоне терапии исследуемым препаратом (Х3).

Из рис. 3 видно, что динамика изменения коэффициента OPG/RANKL демонстрирует проградиентное снижение уровней OPG в группах с нарушениями фосфорно-кальциевого и углеводного обменов и его устойчивую обратную корреляционную связь с показателями уровней RANKL в данных группах. На фоне антирезорбтивной терапии препаратом Х3 в группе крыс с сочетанной патологией не было достигнуто значимого изменения соотношения OPG/RANKL, отражающего активацию процессов остеобластогенеза.

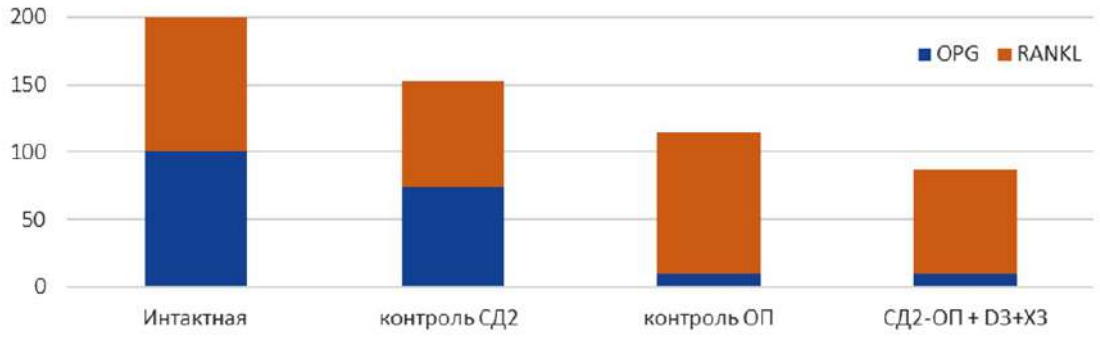



Рис. 3. Схематичное изображение соотношения маркеров остеогенеза (коэффициент OPG/RANKL) в сравниваемых группах крыс. Данные интактных крыс приняты за 100%

Ремоделирование костной ткани, как спонтанное, так и на фоне ее повреждения, представляет собой взаимодействие двух противоположно направленных процессов – резорбции и костного формирования, баланс взаимодействия которых регулируется цитокиновой (лиганд-рецепторной) системой RANK-RANKL-OPG (рис. 4).

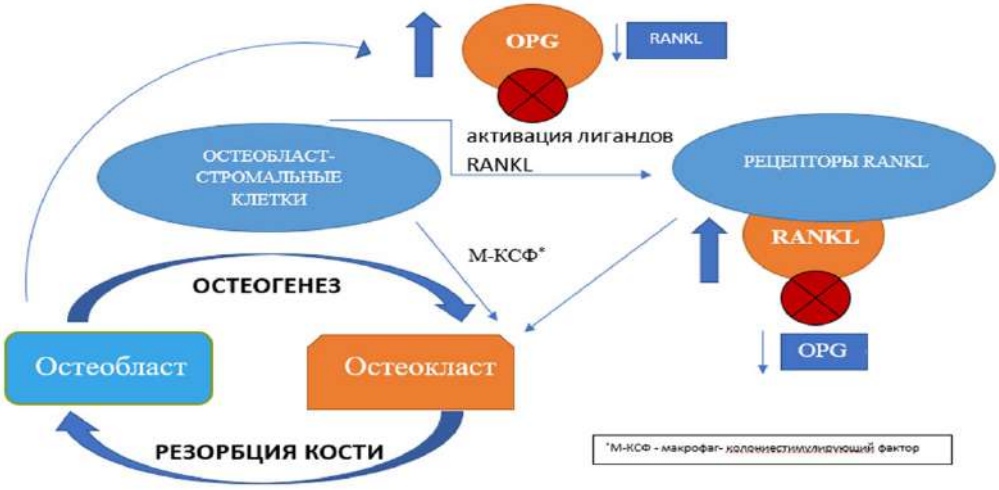



Рис. 4. Система управления костного ремоделирования RANK-RANKL-ORG

Являясь гликопротеинами семейства фактора некроза опухолей (ФНО), данные низкомолекулярные регуляторные белки осуществляют регуляцию остеокластогенеза. Лиганд активатор ядерного фактора каппа-β (RANKL) продуцируется клетками остеобластической линии и активированными Т-лимфоцитами и может определяться в тканях головного мозга, сердца, почек, скелетной мускулатуры и кожных покровов [9]. Повышение уровня RANKL через его взаимодействие с RANK-рецептором имеет решающее значение в активации процесса резорбции кости [13]. Остеопротегерин (OPG) так же секретируется не только остеобластами, но и тканями органов всех систем, включая крупные артерии, вены, стромальные клетки костного мозга и активированные Т-лимфоциты [5,14]. Остеопротегерин, проявляя антагонизм к RANKL, защищает

костную ткань от избыточной резорбции. Коэффициент OPG/RANKL является важным фактором, для определения костной массы и скелетной целостности [13]. Являясь предикторами остеогенеза, исследуемые маркеры костного метаболизма, продемонстрировали высокую информативность в заданном диапазоне задач.

## Заключение

Разрабатываемый препарат Х3 на экспериментальной модели патологии «постменопаузального» остеопороза показал высокую эффективность зачет увеличения биодоступности и усвоения макро и микроэлементов костной тканью [1, 2, 23].

Биодоступность компонентов препарата увеличена за счет применении в препарате солей природных конформеров янтарной кислоты и его сигнальной функцией – лиганд рецепторным взаимодействием сукцината с рецептором SUCNR1 [12, 23]. Активация системы SUCNR/SUCNR1 приводит к усилению метаболизма костной ткани, усилении остеогенеза, остеобластогенеза. Соответственно нарушение углеводного метаболизма в виде СД2 подавляет процесс остеобластогенеза, и снижает фармакологическую эффективность препарата Х3.

Исходя из полученных данных можно предположить, что нарушение углеводного обмена является тормозящим фактором в лечении экспериментально индуцированного остеопороза. Нормализацию уровня маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови и восстановление микроархитектоники костной ткани путем назначения антиостеопорозной терапии необходимо проводить совместно с тщательным подбором лекарственной терапии сахарного диабета.

Таким образом, назначение антиостеопорозного препарата Х3 в комбинации с витамином Д3 самкам крыс с моделью патологии остеопороза приводит к нормализации маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови. Нарушение углеводного обмена в сочетанной патологии остеопороза и СД2 делает неэффективным проводимую антиостеопорозную терапию, что предполагает необходимость предварительной коррекции СД2 сахароснижающими препаратами.

## Литература (references)


1. Байрамов А.А., Мамина Н.Ш., Каронова Т.Л., Шабанов П.Д. Возможности прижизненной валидации модели экспериментального остеопороза // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2020. – Т. 18, №4. – С. 365–367. [Bairamov A.A., Mamina N.SH., Karonova T. L., Shabanov P.D. *Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2020. – V.18, N4. – P. 365–367. (in Russian)]
2. Байрамов А.А., Мамина Н.Ш., Лисовский Д.А., и др. Оценка процессов остеогенеза на фоне терапии экспериментально индуцированного остеопороза // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2023. – Т.21, №3. – С. 273-282. [Bairamov A.A., Mamina N.Sh., Lisovskiy D.A. et al. *Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2023. – V.21, N3. – P. 273-282. (in Russian)]
3. Байрамов А.А., Маевский Е.И., Лисовский А.Д., Качула А.С., Каронова Т.Л., Шабанов П.Д. Анализ эффективности лекарственного препарата на основе солей янтарной кислоты для лечения остеопороза // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2020. – Т.21, №1. – С. 839-853. [Bajramov A.A., Maevskij E.I., Lisovskij A.D., Kachula A.S., Karonova T.L., Shabanov P.D. *Rossijskij biomedicinskij zhurnal* Medline.ru. Russian biomedical journal – 2020. – V.21, N1. – P. 839-853. (in Russian)]
4. Ершов В.Е., Родионова С.С. Демографические тенденции в борьбе с остеопорозом и его последствиями. Российский медицинский журнал. – 2019. – №4. – С. 11-14. [Ershov V.E., Rodionova S.S. *Rossijskij medicinskij zhurnal*. Russian Medical Journal. – 2019. – N4. – P. 11-14. (in Russian)]
5. Карыгина И.Г. Комплекс остеопротегерин-кальцитонин в системе остеогенеза при рахите // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – №5. – С. 24-27. [Kary`gina I.G. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* Modern problems of science and education. – 2019. – N5. – P. 24-27. (in Russian)]
6. Кеттайл В.М., Арки Р.А. Патофизиология эндокринной системы. Пер. с анг. – М. Бином. – 2010. – 335 с. [Cattail V.M., Arki R.A. *Patofiziologiya endokrinnoj sistemy*. – M. Binom. – 2010. – 335 p. (in Russian)]
7. Ларцев Ю.В., Шершовец А.А. Выбор оптимальной экспериментальной модели остеопороза // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т.17, №5(3). – С. 810-812. [Larcev Yu.V., Shershovecz A.A. Izvestiya. *Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. News of the

Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2015. – V.17, N5(3). – P. 810-812. (in Russian)]

8. Лесняк О.М., Баранова И.А., Белова К.Ю., Гладкова Е.Н. и др. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2018. – Т.24, №1. – С. 155-168. [Lesnyak O.M., Baranova I.A., Belova K.Yu., Gladkova E.N. i dr. *Travmatologiya i ortopediya Rossii.* Traumatology and orthopedics of Russia. – 2018. – V.24, N1. – P. 155-168. (in Russian)]
9. Лесняк О., Ершова О., Белова К. и др. Эпидемиология переломов в Российской Федерации и разработка модели FRAX // Архивы остеопороpза. – 2012. – №7. – С. 67-73. [Lesnyak O, Ershova O, Belova K et al. Epidemiology of fracture in the Russian Federation an the development of a FRAX model. *Archives osteoporosis*. – 2012. – V.7, N1-2. – P. 67-73. (in Russian)]
10. Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в Российской Федерации // Профилактическая медицина. – 2011. – № 2. – С. 7–10. [Lesnyak O.M. *Profilakticheskaya medicina*. Preventive medicine. – 2011. – N 2. – P. 7–10. (in Russian)]
11. Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т.63, №6. – С. 392-426. [Mel`nichenko G.A., Belaya Zh.E., Rozhinskaya L.Ya. i dr. *Problemy endokrinologii*. Problems of endocrinology. – 2017. – V.63, N6. – P. 392-426. (in Russian)]
12. Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности // Сб. Под ред. М.Н. Кондрашовой, В.В. Дынника и др. – Пущино, 1978, – 182 с. [*Mitohondrial'nye processy vo vremennoj organizacii zhiznedeyatel'nosti*. Pod red. M.N. Kondrashovoj, V.V. Dynnika, YU.G. Kaminskij, E.I. et al. – Pushchino, 1978. – 182 p. (in Russian)]
13. Нуруллина Г.М. Ахмадуллина Г.И. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе: Значение маркеров костного ремоделирования // Архив внутренней медицины. – 2018. – №2. – С. 100-110. [Nurullina G.M., Axmadullina G.I. *Arhiv vnutrennej mediciny*. Archives of Internal Medicine. – 2018. – N2. – P. 100-110. (in Russian)]
14. Панкратов Ю.В., Пигарова Л.К., Дзеранова Е.А. Витамин-К зависимые белки: остеокальцин, матриксный Gla-белок и их внекостные эффекты // Ожирение и метаболизм. – 2013. – №2 – С. 11-18. [Pankratov Yu.V., Pigarova, L.K., Dzeranova E.A. *Ozhirenie i metabolizm*. Obesity and metabolism. – 2013. – N2. – P. 11-18. (in Russian)]
15. Патент на изобретение RU2582973C1. Байрамов А.А., Шабанов П.Д., Маевский Е.И., и др. Антиостеопорозное средство. [Patent RUS2582973C1. Bajramov A.A., SHabanov P.D., Maevskij E.I. et al. *Antiosteoporoznoe sredstvo*. Anti-osteoporosis remedy. (in Russian)]
16. Терапевтическое действие янтарной кислоты // Сб. Под ред. М.Н. Кондрашовой. – Пущино, 1976. – 255 с. [*Terapevticheskoe dejstvie yantarnoj kisloty. Sb. Pod red. M.N.Kondrashovoj.* Therapeutic effect of succinic acid. – Pushchino, 1976. – 255 p. (in Russian)]
17. Фролькис В.В., Поворознюк В.В., Евтушенко О.А., Григорьева Н.В. Экспериментальный остеопороз // Доктор.ру – 2003. – №6. – С. 48-52. [Frol'kis V, Povoroznyuk V, Evtushenko O, Grigorieva N. *Doctor.ru* – 2003. – N6. – P. 48-52. (in Russian)]
18. Askari M., Lotfi M.X., Ouliya M.B., Fallaxzade X., Moxammadi M. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. – 2019. – V.25, N6. – P. 854-863/
19. Bolland M.J., Grey A.B., Gamble G.D., Reid I.R. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2010. – N95. – P. 1174-1181.
20. Bonds D.E., Larson J.C., Schwartz A.V. et al. Risk of Fracture in Women with Type 2 Diabetes: the Women's Health Initiative Observational Study // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2006. – V.91, N9. – P. 3404-3410.
21. Cao B., Li R., Tian H. et al. Effect on glycemia in rats with type 2 diabetes induced by streptozotocin: low-frequency electro-pulse needling stimulated Weiwanxiashu (EX-B 3) and Zusanli (ST 36) // Journal of Traditional Chinese Medicine. – 2016. – V.36, N6. – P. 768-778.
22. National Osteoporosis Foundation. Advocasy Nrws & Updates. America s Bone Health: The State of osteoporosis and Low Bone Mass. Accessed April 2018, 2011.14. National Osteoporosis Foundation. Fast Facts. Accessed April 2018, 2011.
23. Vasilieva A.A., Simonova M.A, Bairamov A.A. et al. Correction of the functional state of female rats after unilateral ovariectomy using a succinate containing composition // Cardiometry. – 2017. – N10. – P. 86-92.
24. Wallander M., Axelsson K.F., Nilsson A.G. et al. Type 2 diabetes and risk of hip fractures and non-skeletal fall injuries in the elderly: A study from the fractures and fall injuries in the elderly cohort (FRAILCO) // Journal of Bone and Mineral Research. – 2017. – V.32, N3. – P. 449-460.

**Информация об авторах**

*Мамина Наиля Шамилевна* – аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: nelya-mamina@yandex.ru

*Байрамов Алекбер Азизович* – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Института эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: alekber@mail.ru

*Каронова Татьяна Леонидовна* – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической эндокринологии Института эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России. E-mail: karonova@mail.ru

*Тимкина Наталья Владимировна* – научный сотрудник Института эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России. E-mail: n.timkina2014@yandex.ru

*Амрахов Майис Вугар оглы* – лаборант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: amraxov1998@mail.ru

*Кузнецова Наталия Николаевна* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: nat.kuz@mail.ru

*Шабанов Петр Дмитриевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: pdshabanov@ mail.ru

**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.717.61.004.17.616-003* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.2 EDN: BGFMTD*

# КЛИНИЧЕСКАЯ И РАСЧЕТНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С АСТЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

**© Бузник Г.В.[1], Шабанов П.Д.[1, 2]**

[1]*Институт экспериментальной медицины, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12*
[2]*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6*

*Резюме*

**Цель.** Оценить эффективность лечения астенических расстройств у пациентов с астеническими расстройствами на основании биохимических анализов систем оксидации/антиоксидации.

**Методы**. У 683 пациентов с астеническим синдромом вследствие травматических, стрессогенных, токсических воздействий и чрезмерных физических нагрузок исследовали наличие корреляций между эффективностью лекарственного лечения метаболическими корректорами, содержащими (мексикор, цитофлавин, метапрот плюс) и не содержащими (эмоксипин, рибоксин, метапрот) сукцинат в своей структуре (составе). У всех больных в динамике исследовали лабораторные показатели перекисного окисления липидов (концентрации диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) и систем антиоксидантной защиты (активность супероксиддисмутазы, содержание восстановленного глутатиона).

**Результаты.** Установлена более высокая клиническая эффективность курсового (в течение 2-3 недель) назначения сукцинатсодержащих метаболических протекторов (мексикор vs эмоксипин, цитофлавин vs рибоксин, метапрот плюс vs метапрот) в устранении либо уменьшении астенического синдрома у хирургических больных и пострадавших с сочетанными травмами, у больных с невротическими и стрессогенными расстройствами, у больных, перенесших закрытую травму головного мозга, у больных со сформировавшейся зависимостью от алкоголя в постабстинентный период и у спортсменов высоких достижений при чрезмерных нагрузках. Эти данные подтверждены лабораторными исследованиями системы перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и антиокислительной защиты (активность супероксиддисмутазы, содержание восстановленного глутатиона). Сукцинатсодержащие препараты в большей степени снижали показатели перекисного окисления липидов и восстанавливали показатели антиоксидантной защиты.

**Заключение.** Показатели оксидации/антиоксидации следует рассматривать как объективный и достаточно надежный критерий при оценке эффективности антиастенических средств.

*Ключевые слова*: астенический синдром, метаболическая терапия, эффективность, сукцинатсодержащие препараты, перекисное окисление липидов, антиокислительные системы

# CLINICAL AND ESTIMATED EFFECTIVENESS OF SUCCINATE-CONTAINING DRUGS IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH ASTHENIC SYNDROME

Buznik G.V.[1], Shabanov P.D.[1,2]

[1]*Institute of Experimental Medicine, 12, Acad. Pavlov St., 197376, St. Petersburg, Russia*
[2]*S.M. Kirov Military Medical Academy, 6, Acad. Lebedeva St., 194044, St. Petersburg, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To analyze the effectiveness of treatment of asthenic disorders in patients with asthenic disorders based on biochemical analyzes of oxidation/antioxidation systems.

**Methods.** In 683 patients with asthenic syndrome due to traumatic, stressful, toxic influences and excessive physical activity, the presence of correlations between the effectiveness of drug treatment with metabolic correctors containing (Mexicor, Cytoflavin, Metaprot Plus) and not containing (Emoxipin, Riboxin, Metaprot) succinate in their structure (composition) was studied. Laboratory parameters of lipid peroxidation (concentrations of diene conjugates and malonic dialdehyde) and antioxidant defense systems (superoxide dismutase activity, reduced glutathione content) were examined in all patients over time.

**Results.** A higher clinical effectiveness of course (over 2-3 weeks) administration of succinate-containing metabolic protectors (Mexicor vs Emoxypine, Cytoflavin vs Riboxin, Metaprot plus vs Metaprot) in

eliminating or reducing asthenic syndrome in surgical patients and victims with associated injuries, in patients with neurotic and stress-related disorders, in patients who have suffered a closed brain injury, in patients with a developed dependence on alcohol in the post-abstinence period and in high-achieving athletes under excessive loads were established. These data are confirmed by laboratory studies of the lipid peroxidation system (diene conjugates, malonic dialdehyde) and antioxidant protection (superoxide dismutase activity, reduced glutathione content). Succinate-containing drugs reduced lipid peroxidation to a greater extent and restored antioxidant protection.

**Conclusion.** Oxidation/antioxidation indicators should be considered as an objective and fairly reliable criterion when assessing the effectiveness of antiasthenic drugs.

*Keywords:* asthenic syndrome, metabolic therapy, effectiveness, succinate-containing drugs, lipid peroxidation, antioxidant systems

## Введение

При проведении клинических исследований относительно простого или усложненного дизайна авторы традиционно обращаются к выделению неких объективных, чаще всего, биохимических лабораторных маркеров, на основании которых делают заключение об эффективности препарата(ов) или схем (технологий) лечения при том или ином заболевании. Астенический синдром в этом отношении не является исключением, хотя отличается выраженностью клинических проявлений при разных формах патологии.

Ранее мы публиковали работы [1-4], в которых использовали разные дополнительные биохимические критерии оценки тяжести астенического синдрома и результатов его лечения. Итогом стало обоснование принципов рационального фармакологического дифференцированного лечения астенических расстройств разного генеза (исследование включало 683 пациента) с помощью сукцинатсодержащих метаболических протекторов. Речь шла об оценке эффективности лечения астенического симптомокомплекса у хирургических больных и пострадавших с сочетанными травмами, у больных с невротическими и стрессогенными расстройствами, у больных, перенесших закрытую травму головного мозга, у больных со сформировавшейся зависимостью от алкоголя (алкоголизмом II стадии) в постабстинентный период и у спортсменов высоких достижений при чрезмерных нагрузках с помощью курсового (в течение 2-3 недель) назначения сукцинатсодержащих метаболических протекторов (эмоксипин/мексикор, рибоксин/цитофлавин, метапрот/метапрот плюс).

Дизайн исследования представлял рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование в параллельных группах. Было установлено, что в целом назначение сукцинатсодержащих препаратов было более эффективным в сравнении с несукцинатсодержащими средствами.

В процессе лечения метаболическими протекторами показатели перекисного окисления липидов (содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида), как правило, снижались, а активность антиокислительных систем (активность супероксиддисмутазы, уровень восстановленного глутатиона) повышалась, что позволяет расценить указанные показатели как адекватные маркеры редукции астенического состояния больных [4, 5, 14].

Целью исследования явился анализ эффективности лечения астенических расстройств у данных пациентов с астеническими расстройствами на основании биохимических анализов систем оксидации/антиоксидации.

## Методика

Работу проводили на базе ГБУЗ «Городская больница №40» Курортного района Санкт-Петербурга и поликлиники Курортного района Санкт-Петербурга. Проводили двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное сравнительное исследование сукцинатсодержащих препаратов (эмоксипин/мексикор, рибоксин/цитофлавин и метапрот/метапрот плюс), применяемых в рамках комплексной терапии астенического синдрома вследствие травматических, стрессогенных, токсических и физических воздействий. Лечение осуществляли путем курсового назначения указанных препаратов в течение 2-3 недель [1-4, 9, 11]. Количество

рандомизированных пациентов составило 683 человека из 1376 наблюдаемых больных. Контингент больных был амбулаторный.

Критериями включения явились: Больные в возрасте от 18 до 65 лет; наличие диагнозов неврастении (F48), расстройства адаптации по типу смешанной тревожно-депрессивной реакции (F43.22), генерализованного тревожного расстройства (F41.1), смешанного тревожно-депрессивного расстройства (F41.2) по МКБ-10; отсутствие приема психотропных лекарственных средств на протяжении не менее недели до начала испытаний и во время его проведения; амбулаторный контингент.

Критериями исключения были: беременность и кормление грудью; коморбидный диагноз другого тревожного расстройства; эпилепсия и судорожные состояния в анамнезе; алкоголизм и злоупотребление психоактивными препаратами, шизофрения; любые клинически значимые заболевания почек, печени, сердечно-сосудистой, дыхательной системы, цереброваскулярные расстройства в стадии декомпенсации или другие прогрессирующие соматические заболевания; участие в другом клиническом исследовании в последние 30 дней.

Лабораторные методы исследования включали определение в пробах крови содержания диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА), как показателей перекисного окисления липидов [12, 13], и активности супероксиддисмутазы (СОД) и содержания восстановленного глутатиона (ВГ), как показатель активности антиокислительных систем [8, 10].

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows. В описательной статистике определяли значения среднего (M) и ошибку среднего (m). Для сравнения двух независимых групп по одному признаку использовали критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test), для сравнения нескольких независимых групп по одному признаку – критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis H-test).

## Результаты исследования и их обсуждение

С целью контроля эффективности лечения астенических проявлений у разных категорий больных с астеническими расстройствами и здоровых лиц при чрезмерных нагрузках [1-4] наряду с другими тестами были использованы простые биохимические тесты, оценивающие динамику перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантных систем в крови.

В процессе лечения метаболическими протекторами показатели перекисного окисления липидов (содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида), как правило, снижались, а активность антиокислительных систем (активность супероксиддисмутазы, уровень восстановленного глутатиона) повышалась, что позволяет расценить указанные показатели как адекватные маркеры редукции астенического состояния больных [14]. При этом на 15-й день назначения лечебных препаратов показатели перекисного окисления липидов при применении сукцинатсодержащих и сукцинатнесодержащих препаратов были различны (табл. 1).

Парная оценка эффективности применения сукцинатсодержащих и сукцинатнесодержащих препаратов (эмоксипин vs мексикор, рибоксин vs цитофлавин, метапрот vs метапрот плюс) во всех группах исследования, позволила выявить ряд статистических значимых различий ($p<0,05$) в пользу препаратов, содержащих янтарную кислоту (сукцинат), а также стойкую положительную динамику аналогичного характера ($p<0,1$).

Таким образом, опираясь на полученные эмпирические данные, можно с уверенностью заключить, что применение сукцинатсодержащих метаболических протекторов дает лучший результат в процессе лечения и коррекции астенического симптомокомплекса, по сравнению с сукцинатнесодержащими препаратами.

Так как в каждой экспериментальной группе отмечен количественный ($p>0,05$) или качественный ($p<0,05$) терапевтический эффект применения сукцинатсодержащих препаратов, то анализ различий величины сдвига в разных нозоологических группах позволит установить наибольшую эффективность данных лекарственных средств в терапии исследуемых состояний.

Для проведения данной оценки был рассчитан модуль разницы показателей в начале и в конце эксперимента внутри каждой нозологической группы. Полученные величины сдвига была подвергнуты статистической обработке по критерию Краскела-Уоллеса (табл. 2). Кроме того, в ходе данных расчет была замечена наглядная разница значений показателя ДК между спортсменами, принимавшими цитофлавин и метапрот плюс, что навело на мысль провести парный анализ различий их сдвигов.

Таблица 1. Оценка эффективности лечения и коррекции астенических проявлений с помощью сукцинатсодержащих и сукцинатнесодержащих препаратов по показателям перекисного окисления липидов на 15-й день исследования (M±m)

| Препараты | Показатели | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Диеновые конъюгаты, ммоль/л | Малоновый диальдегид, мкмоль/л | Активность супероксид-дисмутазы, А/мг белка | Восстановленный глутатион, ммоль/л |
| Пострадавшие с сочетанными травмами | | | | |
| Рибоксин, n=17 | 28,73±0,19 | 5,96±0,09 | 0,74±0,15 | 1,27±0,08 |
| Цитофлавин, n=17 | 25,16±0,15* | 4,96±0,10* | 1,00±0,14 $^{p}$ | 1,88±0,10* |
| Метапрот, n=17 | 20,14±0,1 | 4,75±0,09 | 0,88±0,15 | 1,79±0,09 |
| Метапрот плюс, n=17 | 19,87±0,1 $^{p}$ | 4,52±0,10 | 1,04±0,15 | 1,91±0,09* |
| Больные с невротическими и стрессогенными расстройствами | | | | |
| Рибоксин, n=20 | 22,96±0,21 | 5,44±0,11 | 0,84±0,14 | 1,37±0,08 |
| Цитофлавин, n=20 | 22,14±0,16 | 4,88±0,11* | 0,99±0,13 | 1,91±0,14* |
| Метапрот, n=20 | 20,54±0,16 | 4,67±0,11 | 0,98±0,14 | 1,86±0,09 |
| Метапрот плюс, n=20 | 18,76±0,19* | 4,32±0,11 $^{p}$ | 1,11±0,16 | 1,94±0,10 |
| Больные, перенесшие закрытую травму головного мозга | | | | |
| Эмоксипин, n=15 | 21,15±0,16 | 5,35±0,10 | 0,79±0,17 | 1,18±0,09 |
| Мексикор, n=15 | 19,28±0,17 $^{p}$ | 4,87±0,09* | 0,72±0,17 | 1,57±0,10 $^{p}$ |
| Рибоксин, n=15 | 21,86±0,19 | 5,26±0,09 | 0,79±0,15 | 1,26±0,07 |
| Цитофлавин, n=15 | 19,89±0,19* | 4,92±0,09 $^{p}$ | 0,77±0,14 | 1,53±0,07 $^{p}$ |
| Метапрот, n=15 | 17,21±0,13 | 4,81±0,09 | 0,95±0,13 | 1,87±0,08 |
| Метапрот плюс, n=15 | 16,28±0,16* | 4,42±0,09 $^{p}$ | 1,12±0,12 | 1,98±0,09 |
| Больные со сформированной зависимостью от алкоголя | | | | |
| Эмоксипин, n=20 | 24,31±0,15 | 6,37±0,11 | 0,82±0,16 | 1,29±0,09 |
| Мексикор, n=20 | 22,39±0,16* | 5,98±0,10 $^{p}$ | 0,83±0,16 | 1,44±0,10 |
| Рибоксин, n=20 | 24,97±0,18 | 6,29±0,10 | 0,88±0,14 | 1,39±0,07 |
| Цитофлавин, n=20 | 22,91±0,18* | 6,88±0,10* | 0,87±0,13 | 1,64±0,07 $^{p}$ |
| Метапрот, n=20 | 20,32±0,14 | 6,92±0,10 | 0,96±0,13 | 1,77±0,08 |
| Метапрот плюс, n=20 | 20,39±0,17 | 6,59±0,10 $^{p}$ | 1,04±0,12 | 2,01±0,09 $^{p}$ |
| Спортсмены | | | | |
| Рибоксин, n=18 | 24,84±0,18 | 7,24±0,10 | 0,89±0,14 | 1,37±0,07 |
| Цитофлавин, n=18 | 22,80±0,18* | 6,97±0,10 $^{p}$ | 0,87±0,13 | 1,61±0,07 $^{p}$ |
| Метапрот, n=18 | 20,31±0,14 | 6,97±0,10 | 0,97±0,13 | 1,79±0,08 |
| Метапрот плюс, n=16 | 19,24±0,17* | 6,88±0,10 | 1,02±0,12 | 2,06±0,09 $^{p}$ |

Примечание: ДК – диеновые конъюгаты, МДА – малоновый диальдегид, СОД – супероксиддисмутаза, ВГ – восстановленный глутатион. * – p<0,05, $^{p}$ – p<0,1 при парном сравнении сукцинатсодержащих и сукцинатнесодержащих препаратов

Анализ величины сдвига показателей респондентов, принимавших цитофлавин, выявил статистически значимые различия по всем критериям. При этом пострадавшие с сочетанными травмами продемонстрировали самые значимые положительные сдвиги по показателям ДК и СОД (p<0,05) и по показателям МДА и ВГ (p<0,01). Также наиболее заметный положительный сдвиг по показателю ДК показали больные со сформированной зависимостью от алкоголя (p<0,05).

Сравнительная оценка величины сдвига показателей респондентов, принимавших метапрот плюс, выявила статистически значимые различия по критериям ДК и МДА. Так пострадавшие с сочетанными травмами показали наиболее значимые сдвиги по показателям ДК и МДА (p<0,01), а больные со сформированной зависимостью от алкоголя по показателю ДК (p<0,01).

Проведенное парное сравнение величин сдвига спортсменов, принимавших цитофлавин и метапрот плюс, показало статистически значимую разницу применения сукцинатсодержащих препаратов в пользу метапрот плюс в рамках профилактики астенических расстройств.

Таблица 2. Сравнительная оценка по критерию Краскела-Уоллеса величины сдвига показателей перекисного окисления липидов разных нозологических групп в результате применения сукцинатсодержащих препаратов (M±m)

| Экспериментальные группы | Модуль разностей исходных и конечных показателей перекисного окисления липидов | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Диеновые конъюгаты, ммоль/л | Малоновый диальдегид, мкмоль/л | Активность супероксид-дисмутазы, А/мг белка | Восстановленный глутатион, ммоль/л |
| Цитофлавин | | | | |
| Пострадавшие с сочетанными травмами (n=17) | 11,87±0,04 | 3,53±0,09 | 0,59±0,01 | 1,25±0,03 |
| Больные с невротическими и стрессогенными расстройствами (n=20) | 5,09±0,02 | 1,64±0,06 | 0,35±0,01 | 0,97±0,05 |
| Больные, перенесшие закрытую травму головного мозга (n=15) | 6,25±0,05 | 1,37± 0,11 | 0,19±0,01 | 0,84±0,01 |
| Больные со сформированной зависимостью от алкоголя (n=20) | 10,34±0,02 | 1,46±0,11 | 0,39±0,01 | 0,68±0,01 |
| Спортсмены (n=18) | 0,53±0,02 | 1,39±0,09 | 0,4±0,01 | 0,63±0,01 |
| p-уровень | <0,05 | <0,01 | <0,05 | <0,01 |
| Метапрот плюс | | | | |
| Пострадавшие с сочетанными травмами (n=17) | 16,62±0,02 | 3,81±0,09 | 0,55±0,01 | 1,23±0,03 |
| Больные с невротическими и стрессогенными расстройствами (n=20) | 7,7±0,02 | 2,07±0,06 | 0,39±0,03 | 1,06±0,02 |
| Больные, перенесшие закрытую травму головного мозга (n=15) | 9,25±0,01 | 2,02±0,08 | 1,00±0,47 | 1,17±0,01 |
| Больные со сформированной зависимостью от алкоголя (n=20) | 12,25±0,01 | 1,94±0,08 | 0,55±0,01 | 1,10±0,01 |
| Спортсмены (n=16) | 3,93±0,01* | 1,69±0,08 | 0,54±0,01 | 1,11±0,01 |
| p-уровень | <0,01 | <0,01 | >0,05 | >0,05 |

Примечание: * – p<0,05 при парном сравнении величины сдвига спортсменов, принимавших цитофлавин и метапрот плюс с помощью U-критерия Манна-Уитни

Основу действия метаболических протекторов составляют несколько механизмов: 1) оптимизация энергетических процессов в важнейших органах и системах; 2) ускорение репаративного синтеза РНК и белков в поврежденных тканях; 3) улучшение системной и микрогемодинамики пораженных органов; 4) улучшение взаимодействия между нейромедиаторными и регуляторными пептидными системами [6, 7]. Сукцинат, как структурный компонент ряда исследованных метаболических протекторов в настоящем сравнительном исследовании препаратов, его содержащих или несодержащих (мексикор vs эмоксипин, цитофлавин vs рибоксин, метапрот плюс vs метапрот), по-видимому, играет значимую роль в их нейрометаболическом действии. Это связано как с его предполагаемым чисто метаболическим эффектом, поскольку сукцинат играет важную роль в цикле Кребса (что маловероятного из-за небольших концентраций самой кислоты в соединениях типа мексидола и метапрота плюс, но вполне вероятно в композите цитофлавина), так и самостоятельным влиянием на внутриклеточный сигналинг через чувствительные к сукцинату рецепторы SUCNR1 [15, 16]. Последний механизм все чаще рассматривается как ведущий при объяснении нейрометаболических эффектов сукцинатсодержащих препаратов [7]. Однако, как бы там ни было, полученные нами улучшенные антиастенические эффекты сукцинатсодержащих препаратов в сравнении с сукцинатнесодержащими средствами указывают на важность данного структурного или составного компонента подобных препаратов.

## Заключение

Таким образом, исходя из данных, описанных в наших более ранних работах, а также представленных в таблицах, можно сделать вывод об эффективности применения сукцинатсодержащих препаратов в терапии рассматриваемых нозологий и подчеркнуть особую эффективность используемых лекарственных средств в лечении астенических расстройств травматического, стрессогенного, токсического или физического происхождения.

## Литература (references)

1. Бузник Г.В. Повышает ли сукцинат как компонент лекарственного средства эффективность лечения расстройств астенического спектра у пациентов с соматическими травмами? // Обзоры по клинической

фармакологии и лекарственной терапии. – 2022. – Т.20, №1. – С. 89-98. [Buznik G.V. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii.* Review on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2022. – V.20, N1. – P. 89-98. (in Russian)]

2. Бузник Г.В., Востриков В.В., Шабанов П.Д. Фармакологическая реабилитация больных алкоголизмом в постабстинентном периоде метаболическими средствами, содержащими и не содержащими сукцинат // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №4. – С. 25-34. [Buznik G.V., Vostrikov V.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N4. – P. 25-34. (in Russian)]
3. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Фармакотерапия нарушений астенического спектра у хирургических пациентов и пострадавших с сочетанными травмами с помощью сукцинатсодержащих препаратов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №3. – С. 17-30. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N3. – P. 17-30. (in Russian)]
4. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Сравнение эффективности лечения астенических нарушений вследствие невротических и связанных со стрессом расстройств феназепамом и сукцинатсодержащими метаболическими протекторами // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №3. – С. 31-40. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N3. – P. 31-40 (in Russian)]
5. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Сукцинатсодержащие антигипоксанты в лечении астенических расстройств // Известия национальной академии наук Кыргызской Республики. – 2022. – №6. – С. 27-32. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Izvestiya natsional'noy akademii nauk Kyrgyzskoy Respubliki*. News of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic. – 2022. – N6. – P. 27-32. (in Russian)]
6. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Старческая астения, клинические особенности и подходы к лечению (миниобзор) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.19, №3. – С. 142-147. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – V.19, N3. – P. 142-147. (in Russian)]
7. Воронина Т.А. Когнитивные нарушения и ноотропные препараты: механизм действия и спектр эффектов // Нейрохимия. – 2022. – Т.40, №2. – С. 121-131. [Voronina T.A. *Neyrokhimiya*. Neurochemistry. – 2022. – V.40, N2. – P. 121-131. (in Russian)]
8. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов в плазме крови человека // Лабораторное дело. – 1983. – №10. – С. 30-33. [Dubinina E.E., Sal'nikova L.A., Efimova L.F. *Laboratornoe delo*. Laboratory points. – 1983. – N10. – P. 30-33. (in Russian)]
9. Костов Ф.Ф., Родичкин П.В., Бузник Г.В., Лымаренко В.М., Яковлев Е.В. Методика профилактики донозологических проявлений реактивной астении у спортсменов // Вестник психотерапии. – 2020. – №73(78). – С. 100-109. [Kostov F.F., Rodichkin P.V., Buznik G.V., Lymarenko V.M., Yakovlev Ye.V. *Vestnik psikhoterapii*. Bulletin of Psychotherapy. – 2020. – N73(78). – P. 100-109. (in Russian)]
10. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона // Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: ЛГУ, 1982. – С. 183-187. [Putilina F.E. *Metody biochimicheskih issledovanii*. Methods of biochemival studies / Ed. by M.I. Prohorova. – Leningrad: LGU, 1982. – P. 183-187. (in Russian)]
11. Родичкин П.В., Костов Ф.Ф., Бузник Г.В. Эмоциональная устойчивость как фактор профилактики астении у спортсменов высокого класса // Теория и практика физич. культуры. – 2015. – №10. – С. 39-42. [Rodichkin P.V., Kostov F.F., Buznik G.V. *Teoriya I praktika fizicheskoi kul'tury*. Theory and Practice of Physical Culture. – 2015. – N10. – P. 39-42. (in Russian)]
12. Стальная И.Д. Метод определения диеновых конъюгатов ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64. [Stal'naya I.D. *Sovremennye metody v biohimii*. Modern methods in biochemistry / Ed. By V.N. Orehovich. – Moscow: Meditsina, 1977. – P. 63-64. (in Russian)]
13. Стальная И.Д., Горишвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68. [Stal'naya I.D., Girishvili T.G. *Sovremennye metody v biohimii*. Modern methods in biochemistry / Ed. By V.N. Orehovich. – Moscow: Meditsina, 1977. – P. 66-68. (in Russian)]
14. Шабанов П.Д., Бузник Г.В., Байрамов А.А. Фармакотерапия астенического синдрома средствами метаболической терапии: рекомендации для врачей. – СПб.: ВМедА, 2020. – 56 с. [Shabanov P.D., Buznik G.V., Bayramov A.A. *Farmakoterapiya astenicheskogo sindroma sredstvami metabolicheskoy terapii: rekomendatsii dlya vrachey*. – SPb.: VMedA, 2020. – 56 p. (in Russian)]
15. Macias-Ceja D.C., Ortiz-Masiá D., Salvador P. et al. Succinate receptor mediates intestinal inflammation and fibrosis. Mucosal Immunology. – 2019. – V.12, N1. – P. 178-187.
16. Wu J.Y., Huang T.W., Hsieh Y.T. et al. Cancer-Derived Succinate Promotes Macrophage Polarization and Cancer Metastasis via Succinate Receptor. Molecules and Cell. – 2020. – V.77, N2. – P. 213-227.e5.

**Информация об авторах**

*Бузник Галина Викторовна* – кандидат медицинских наук, докторант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: galina.viki@mail.ru

*Шабанов Петр Дмитриевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры фармакологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. E-mail: pdshabanov@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.12.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.717.61.004.17.616-003* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.3 EDN: CJKIJN*

# СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИЕ ПРЕПАРАТЫ В ТЕРАПИИ АСТЕНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ВСЛЕДСТВИЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ТРАВМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**© Бузник Г.В.[1], Зарубина И.В.[2], Шабанов П.Д.[1, 2]**

[1]*Институт экспериментальной медицины, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12*

[2]*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6*

*Резюме*

**Цель.** Оценка эффективности сукцинатсодержащих препаратов при лечении астенического симптомокомплекса у больных, перенесших закрытую черепно-мозговую травму.

**Методы**. У 116 пациентов, перенесших одиночную закрытую черепно-мозговую травму, мужчин и женщин в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст составил 29,8±3,4 лет), с длительностью болезни от 3 месяцев до 6 лет (в среднем 4,1±1,4 года) проводили двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное сравнительное исследование в парах эффективности сукцинатнесодержащих и сукцинатсодержащих препаратов (эмоксипин vs мексикор, рибоксин vs цитофлавин и метапрот vs метапрот плюс). Все больные были разделены на 8 групп по 13-15 человек в каждой, получавших различные схемы лечения в соответствии с протоколом клинических исследований. Курс назначения препаратов (эмоксипин/мексикор, рибоксин/цитофлавин и метапрот/метапрот плюс и плацебо) составлял 15 дней. Для объективизации исследования и формализации клинических показателей использовали шкалу MAST; цветовую методику оценки эмоционального состояния М. Люшера; метод определений простой зрительной моторной реакции; корректурную пробу с использованием таблиц А.Г. Иванова-Смоленского и отыскивания чисел по таблицам Шульте; исследование памяти по методике А. Лурия на запоминание 10 слов. Также в крови исследовали оксидативный (содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов) и антиоксидативный (активность супероксиддисмутазы, содержание восстановленного глутатиона) статус больных в период лечения.

**Результаты.** Курсовое лечение больных с последствиями закрытой травмы головного мозга с помощью сукцинатнесодержащих (эмоксипин, рибоксин, метапрот) и сукцинатсодержащих (мексикор, цитофлавин и метапрот плюс) препаратов уменьшало нарушения астенического симптомокомплекса в разной степени. Значимый положительный терапевтический эффект регистрировали для метапрота плюс > цитофлавина > метапрота > мексикора (вещества расположены в порядке убывания активности), то есть сукцинатсодержащие препараты проявили больший положительный эффект в сравнении с сукцинатнесодержащими метаболическими препаратами (эмоксипином и рибоксином). Терапевтическое действие метаболических протекторов заключалось в уменьшении слабости, истощаемости, проявлений вегетативной дисфункции, улучшением настроения и сна, уменьшением тревоги и депрессивности.

**Заключение.** Следовательно, сукцинатсодержащие метаболические протекторы (мексикор, цитофлавин, метапрот плюс) при курсовом назначении в течение 2 недель проявляют выраженное антиастеническое действие, заключающееся в нормализации психического состояния и улучшении соматического здоровья пациентов, перенесших травму мозга. Антиастеническое действие этих препаратов в целом выше, чем терапевтические эффекты аналогичных средств, в структуре которых отсутствует янтарная кислоты (эмоксипин, рибоксин, метапрот).

*Ключевые слова*: закрытая черепно-мозговая травма, астенический синдром, метаболическая терапия, эффективность, сукцинатсодержащие препараты

# SUCCINATE-CONTAINING PREPARATIONS IN THE THERAPY OF ASTHENIC DISORDERS DUE TO BRAIN TRAUMA

Buznik G.V.[1], Zarubina I.V.[2], Shabanov P.D.[1, 2]

[1]*Institute of Experimental Medicine, 12, Acad. Pavlov St., 197376, St. Petersburg, Russia*

[2]*S.M. Kirov Military Medical Academy, 6, Acad. Lebedeva St., 194044, St. Petersburg, Russia*

*Abstract*

**Objective.** Evaluation of the effectiveness of succinate-containing drugs in the treatment of asthenic symptom complex in patients who have suffered closed craniocerebral trauma.

**Methods**. In 116 patients who suffered a single closed craniocerebral injury, men and women aged from 18 to 45 years (average age was 29.8±3.4 years), with illness duration from 3 months to 6 years (average 4.1±1.4 years) we conducted a double-blind, placebo-controlled, randomized comparative study in pairs of the effectiveness of succinate-free and succinate-containing drugs (Emoxipin vs Mexicor, Riboxin vs Cytoflavin and Metaprot vs Metaprot plus). All patients were divided into 8 groups of 13-15 people each, receiving various treatment regimens in accordance with the clinical trial protocol. The course of prescription of drugs (Emoxipin/Mexicor, Riboxin/Cytoflavin and Metaprot/Metaprot plus and placebo) was 15 days. To objectify the study and formalize clinical indicators, the MAST scale was used; color method for assessing the emotional state of M. Luscher; method for determining a simple visual motor reaction; proofreading test using A.G. Ivanov-Smolensky tables and finding numbers using Schulte tables; memory research using A. Luria's method for memorizing 10 words. The oxidative (content of malonic dialdehyde and diene conjugates) and antioxidant (superoxide dismutase activity, reduced glutathione content) status of patients during the treatment period was also examined in the blood.

**Results.** A course of treatment of patients with the consequences of closed brain injury using succinate-free (Emoxipine, Riboxin, Metaprot) and succinate-containing (Mexicor, Cytoflavin and Metaprot plus) drugs reduced the disturbances of the asthenic symptom complex to varying degrees. A significant positive therapeutic effect was recorded for Metaprot plus > Cytoflavin > Metaprot > Mexicor (substances are arranged in descending order of activity), that is, succinate-containing drugs showed a greater positive effect compared to succinate-free metabolic drugs (Emoxipine and Riboxin). The therapeutic effect of metabolic protectors was to reduce weakness, exhaustion, manifestations of autonomic dysfunction, improve mood and sleep, reduce anxiety and depression.

**Conclusion.** Consequently, succinate-containing metabolic protectors (Mexicor, Cytoflavin, Metaprot plus), when administered in a course of 2 weeks, exhibit a pronounced antiasthenic effect, which consists in normalizing the mental state and improving the somatic health of patients who have suffered a brain injury. The antiasthenic effect of these drugs is generally higher than the therapeutic effects of similar drugs, the structure of which does not contain succinic acid (Emoxipin, Riboxin, Metaprot).

*Keywords:* closed craniocerebral injury, asthenic syndrome, metabolic therapy, effectiveness, succinate-containing drugs

## Введение

Закрытая черепно-мозговая травма (ЗЧМТ) широко распространена у населения и часто расценивается им как бытовое повреждение. Как правило, при лечении ЗЧМТ не учитывается астеническая симптоматика, свойственная данного виду патологии. В большинстве своем она проявляются тревожностью, (суб)депрессивностью, повышенной психической и физической утомляемостью, слабостью, рассеянностью, рассредоточенностью внимания, снижением физической и умственной работоспособности, потребностью в значительном отдыхе, высокой психической истощаемостью, нередко нарушениями социальной адаптации [13]. Клинические проявления астенического синдрома после ЗЧМТ сохраняются достаточно долго, многие из них устойчивы к терапии и требуют периодического назначения лечения транквилизаторами и нейрометаболическими средствами [5-7].

Цель исследования – оценка эффективности сукцинатсодержащих препаратов при лечении астенического симптомокомплекса у больных, перенесших закрытую черепно-мозговую травму.

## Методика

Работу проводили на базе ГБУЗ «Городская больница №40» Курортного района Санкт-Петербурга. Из 277 пациентов было рандомизировано 116 больных, госпитализированных в неврологическое отделение с диагнозом «последствия однократной изолированной закрытой черепно-мозговой травмы (ЗЧМТ)», в структуре которой доминировали астеноневротический и астеновегетативный синдромы. Факт перенесенной травмы и ее характер определяли на основании анамнеза и медицинских сведений лечебных учреждений, где больные проходили лечение в

остром периоде травмы. Больных с последствиями сотрясения головного мозга легкой степени объединяли в группу легкой ЗЧМТ, пострадавших с ушибами головного мозга средней степени – в среднетяжелую.

Обследованы пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст составил 29,8±3,4 лет), у которых длительность заболевания составляла от 3 месяцев до 6 лет (в среднем, 4,1±1,4 года).

Дизайн исследования представлял собой двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное сравнительное исследование в парах сукцинатнесодержащих и сукцинатсодержащих препаратов (эмоксипин vs мексикор, рибоксин vs цитофлавин и метапрот vs метапрот плюс), применяемых в комплексной терапии больных с последствиями перенесенной ЗЧМТ. Все больные разделены на 8 групп по 13-15 человек в каждой, получавших различные схемы лечения в соответствии с протоколом клинических исследований.

Эмоксипин (20 мг, 1% раствор 2 мл) и мексикор (100 мг, 5% раствор 2 мл) вводили один раз в день внутримышечно. Рибоксин (табл. по 0,2 г), цитофлавин (табл. по 0,38 г), метапрот (капс. по 0,25 г) и метапрот плюс (капс. 0,175 г: метапрот 0,125 г и янтарная кислота 0,05 г) назначали по 2 табл/капс 3 раза в день после еды. В качестве плацебо применяли 2 мл 0,9% раствора хлорида натрия внутримышечно один раз в день (плацебо к эмоксипину и мексикору) или капсулы (таблетки), внешне идентичные капсулам (таблеткам) исследованных препаратов (рибоксину, цитофлавину, метапроту, метапроту плюс), содержащие крахмал и глюкозу. Курс назначения препаратов (эмоксипин/мексикор, рибоксин/цитофлавин и метапрот/метапрот плюс и плацебо) составлял 15 дней.

Для объективизации исследования и формализации клинических показателей использовали шкалу MAST (ее принцип рандомизации предусматривает исключение заболевших в возрасте старше 70 лет, пациентов с угнетением сознания в момент госпитализации, больных с почечной недостаточностью и ранее перенесших инсульт и инфаркт миокарда); цветовую методику оценки эмоционального состояния М. Люшера; метод определений простой зрительной моторной реакции; корректурную пробу с использованием таблиц А.Г. Иванова-Смоленского и отыскивания чисел по таблицам Шульте; исследование памяти по методике А. Лурия на запоминание 10 слов [1, 10].

Забор крови на исследование оксидативного (содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов) [11, 12] и антиоксидативного (активность супероксиддисмутазы, содержание восстановленного глутатиона) [8, 9] статуса производили до исследования (Д0) и в последний день его окончания (Д15).

## Результаты исследования и их обсуждение

У 116 больных, перенесших ЗЧМТ разной степени тяжести (преимущественно средней степени) и проходивших стационарное лечение, исследовали влияние сукцинатсодержащих препаратов эмоксипин vs мексикор, рибоксин vs цитофлавин и метапрот vs метапрот/плюс на посттравматический астенический симптомокомплекс. Продолжительность курса лечения составила 15 дней.

У всех пациентов с последствиями ЗЧМТ был диагностирован астенический симптомокомплекс, главным образом в форме астено-невротического состояния, которые проявились повышенной психической и физической утомляемостью, слабостью, рассеянностью, рассредоточенностью внимания, снижением физической и умственной работоспособности, потребностью в длительном отдыхе даже после незначительной работы. Высокая психическая истощаемость пациентов сочеталось с чрезмерной возбудимостью, что сопровождалось, как правило, повышением уровня тревожности, свидетельствующем о нарушении психической адаптации.

Объективную оценку выраженности нарушений астенического спектра у больных с последствиями ЗЧМТ осуществляли с помощью широко распространенного в неврологии цветового теста М. Люшера. При этом у пациентов с последствиями закрытой травмы головного мозга выявлены характерные для астенического синдрома показатели вегетативного коэффициента, которые колебались в диапазоне от 0,2 до 0,5 (из максимальных значений в 1,0). Они квалифицировались как наличие состояния астении, установки больного на отдых и восстановление сил, наличие признаков хронического утомления и истощения жизненного энергоресурса. Пациенты с последствиями закрытой травмы головного мозга пассивно реагировали на трудности, проявляли явную неготовность к напряжению сил и неадекватность

действий в стрессовых ситуациях. В экстремальной обстановке для них была наиболее вероятна реакция заторможенности и депрессии.

Курсовое лечение больных с последствиями ЗЧМТ с помощью сукцинатнесодержащих и сукцинатсодержащих препаратов приводила к уменьшению астенических расстройств разной степени выраженности. Положительный терапевтический эффект, оцениваемый по показателю вегетативного коэффициента, отмечали уже к 7-му дню от начала лечения (Д7), он пропорционально усиливался к Д15 (табл. 1). Следует отметить, что после назначения всех метаболических препаратов вегетативный коэффициент возрастал, при этом максимальные его значения определяли для метапрота плюс > цитофлавина > метапрота > мексикора. Менее значимые изменения были отмечены от лечения эмоксипином и рибоксином.

Следовательно, сукцинатсодержащие препараты проявили больший положительный эффект в сравнении с сукцинатнесодержащими метаболическими препаратами. Терапевтическое действие препаратов заключалось в уменьшении слабости, истощаемости, проявлений вегетативной дисфункции, улучшением настроения и сна, уменьшением тревоги и депрессивности. У части пациентов (около 11%) с гиперастенической формой астении наблюдали некоторые признаки гиперактивации, проявляющиеся повышением раздражительности, поверхностным сном, нарастанием вегетативных по типу лабильности пульса и повышенной потливости.

Таблица 1. Эффективность лечения астенических расстройств у больных, перенесших ЗЧМТ с помощью сукцинатсодержащих препаратов, оцененные по показателям вегетативного коэффициента М. Люшера (M±m)

| №№ групп | Группа | Дни наблюдений | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Д0 | Д7 | Д15 |
| 1 | Эмоксипин, n =15 | 0,421±0,003 | 0,474±0,005# | 0,511±0,005*# |
| 2 | Мексикор, n=15 | 0,426±0,005 | 0,517±0,005# | 0,603±0,004*# |
| 3 | Рибоксин, n=15 | 0,431±0,004 | 0,458±0,005 | 0,489±0,004*# |
| 4 | Цитофлавин, n=15 | 0,433±0,004 | 0,598±0,005# | 0,741±0,006*# |
| 5 | Метапрот, n = 15 | 0,420±0,003 | 0,611±0,005# | 0,729±0,005*# |
| 6 | Метапрот плюс, n = 15 | 0,416±0,004 | 0,598±0,005# | 0,816±0,002*# |
| 7 | Плацебо инъекц, n = 13 | 0,417±0,003 | 0,425±0,004 | 0,429±0,004 |
| 8 | Плацебо внутрь, n=15 | 0,419±0,004 | 0,429±0,003 | 0,431±0,005 |

Примечание: Вегетативный коэффициент измерялся в условных единицах в диапазоне от 0,1 до 1,0. *p<0,05 в сравнении с контролем (плацебо); #p<0,05 в сравнении с Д0

Следующим этапом оценки эффективности лечения больных, перенесших ЗЧМТ, с помощью сукцинатнесодержащих и сукцинатсодержащих метаболических препаратов была оценка уровня работоспособности по простой зрительной моторной реакции. Важно отметить, что в двух группах больных, перенесших ЗЧМТ, и получавших плацебо (инъекции или капсулы внутрь), уровень работоспособности практически не менялся. Остальные препараты, за исключением эмоксипина, улучшали показатели работоспособности, при этом препараты по эффективности расположились в следующий ряд (по мере убывания активности): метапрот плюс = цитофлавин > метапрот > рибоксин > мексикор.

Произвольное внимание у больных, перенесших ЗЧМТ, в ходе лечения сукцинатнесодержащими и сукцинатсодержащими препаратами оценивали с помощью метода отыскивания чисел по таблицам Шульте. Оценка исходного объема произвольного внимания по таблицам Шульте показала его сниженный уровень у больных, перенесших ЗЧМТ, что проявлялось увеличением времени, затраченного на выполнение задания по каждой таблице. Практически все исследованные метаболические препараты оказывали положительное влияние на процессы внимания у больных, при этом время на выполнение задания сокращалось. Наиболее значимое влияние на произвольное внимание оказывал метапрот плюс, в меньшей степени цитофлавин, рибоксин, метапрот, мексикор и эмоксипин (в порядке убывания активности). В целом же, все исследованные метаболические протекторы оказывали положительное влияние на процессы внимания у больных, перенесших ЗЧМТ. Важно отметить, что плацебо, вне зависимости от способа введения (внутрь или внутримышечно) не влияло на исследованные процессы.

Лечение метаболическими препаратами улучшило самочувствие больных, повышало их активность и настроение, оптимизм в отношении будущего. Практически все пациенты отмечали нормализацию сна, субъективное улучшение памяти, повышение умственной и физической

работоспособности, снижение раздражительности и депрессивности. Усиливалась поведенческая активность, появлялось желание работать, изменялся характер поведения, устранялись невротические астенические проявления.

Изучение процессов перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантных систем у больных, перенесших закрытую травму головного мозга, показало, что в крови у них регистрируется умеренное повышение содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида со снижением активности супероксиддисмутазы и концентрации восстановленного глутатиона (табл. 2).

Таблица 2. Эффективность лечения астенических расстройств у больных, перенесших ЗЧМТ, с помощью сукцинатсодержащих препаратов, оцененные по показателям перекисного окисления липидов и активности антиокислительных систем (M±m)

| №№ групп | Препарат | Показатели | Дни наблюдений | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Д0 | Д15 |
| 1 | Эмоксипин | ДК, ммоль/л | 24,22±0,29 | 21,15±0,16*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,12±0,21 | 5,35±0,10*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,59±0,15 | 0,79±0,17*# |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,71±0,05 | 1,18±0,09*# |
| 2 | Мексикор | ДК, ммоль/л | 25,34±0,27 | 19,28±0,17*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,64±0,21 | 4,87±0,09*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,54±0,15 | 0,72±0,17*# |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,76±0,06 | 1,57±0,10*# |
| 3 | Рибоксин | ДК, ммоль/л | 25,66±0,17 | 21,86±0,19*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,15±0,21 | 5,26±0,09*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,63±0,15 | 0,79±0,15* |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,72±0,08 | 1,26±0,07*# |
| 4 | Цитофлавин | ДК, ммоль/л | 26,14±0,14 | 19,89±0,19*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,29±0,20 | 4,92±0,09*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,58±0,13 | 0,77±0,14*# |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,69±0,08 | 1,53±0,07*# |
| 5 | Метапрот | ДК, ммоль/л | 24,24±0,21 | 17,21±0,13*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,51±0,17 | 4,81±0,09*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,53±0,10 | 0,95± 0,13*# |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,82±0,06 | 1,87±0,08*# |
| 6 | Метапрот плюс | ДК, ммоль/л | 25,53±0,15 | 16,28±0,16*# |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,44±0,17 | 4,42±0,09*# |
| | | СОД, А/мг белка | 0,59±0,12 | 1,12± 0,12*# |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,81±0,10 | 1,98±0,09*# |
| 8 | Плацебо | ДК, ммоль/л | 26,68±0,15 | 24,91±0,13 |
| | | МДА, мкмоль/л | 6,25±0,19 | 6,11±0,14 |
| | | СОД, А/мг белка | 0,86±0,16 | 0,78±0,15 |
| | | Глутатион, ммоль/л | 0,64±0,08 | 0,72±0,07 |
| 9 | Здоровые (норма) | ДК, ммоль/л | 15,22±0,13 | |
| | | МДА, мкмоль/л | 3,6±0,05 | |
| | | СОД, А/мг белка | 1,25± 0,13 | |
| | | Глутатион, ммоль/л | 2,24±0,07 | |

Примечание: ДК – диеновые конъюгаты; МДА – малоновый диальдегид; СОД – супероксиддисмутаза; *$p<0,05$ в сравнении с периодом до лечения (Д0). #$p<0,05$ в сравнении с группой контроля (плацебо)

Проведенный курс лечения способствовал снижению содержания продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида), повышал активность супероксиддисмутазы и увеличивал концентрацию восстановленного глутатиона. Лечение метапротом плюс > метапротом > цитофлавином = мексикором > эмоксипином = рибоксином (препараты расположены в порядке убывания активности) снижало уровень диеновых конъюгатов в сыворотке крови пациентов, перенесших ЗЧМТ. Аналогичным образом снижался уровень малонового диальдегида, причем различия в действии препаратов были менее выражены.

Антиоксидантная активность супероксиддисмутазы повышалась почти вдвое под влиянием лечения метапротом плюс, метапротом и цитофлавином и в меньшей степени – при лечении мексикором, рибоксином и эмоксипином. Аналогичную закономерность наблюдали и по показателю уровня восстановленного глутатиона, который повышался более чем в 2 раза под влиянием лечения метапротом плюс, метапротом, цитофлавином и мексикором и в меньшей степени – при лечении рибоксином и эмоксипином.

Таким образом, все исследованные метаболические протекторы оказывали нормализующее действие на состояние оксидативного статуса крови и активность антиокислительных систем, причем сукцинатсодержащие препараты (метапрот плюс, цитофлавин и мексикор), как правило, проявляли бóльшую активность в сравнении с сукцинатнесодержащими (метапрот, рибоксин и эмоксипин) препаратами.

Сравнение полученных данных о высокой эффективности сукцинатсодержащих препаратов при астеническом синдроме вследствие перенесенной ЗЧМТ с предыдущими нашими работами [1-5, 13], в которых выявлены аналогичные положительные результаты у пациентов с соматическим травмами [1, 3], невротическими и связанными со стрессом расстройствами [4, 5], у больных алкоголизмов в постабстинентный период [2], подчеркивает универсальный характер действия использованных нейрометаболических средств, в нашем случае содержащих сукцинат в своей структуре (мексикор, цитофлавин и метапрот плюс) или же его не содержавших (эмоксипин, рибоксин, метапрот). При этом, сукцинатсодержащие препараты оказывали более выраженное действие в сравнении с лекарственными средствами, не содержащими сукцинат.

Янтарную кислоту (сукцинат) часто рассматривают как экзогенный энергетический субстрат, поддерживающий метаболический статус клеточных митохондрий поврежденных важнейших органов (головной мозг, миокард, печень, легкие, почки). Это верно лишь отчасти, поскольку количество янтарной кислоты, входящей в лекарственные формы препаратов, обычно невелико и составляет от 25 до 200 мг. В случае с цитофлавином, например, где действующими веществами выступает янтарная кислота и рибоксин, это вполне допустимо. Хотя трудно себе представить, что янтарная кислота в виде заряженного отрицательно сукцината легко проходит все тканевые барьеры (всасываясь из желудка, попадает в кровь, далее в клетки, затем в субклеточные компартменты, включая митохондрии, и, наконец, встраивается в цикл Кребса как субстрат). Более вероятный механизм состоит в активации специфических для сукцината SUCNR1 рецепторов на внешней стороне мембраны клеток и запуске внутриклеточных процессов [14], в том числе обеспечивающих метаболический статус и белок-синтезирующие процессы в клетке. В этом случае сукцинат выполняет роль сигнальной молекулы, запускающей цепь значимых внутриклеточных процессов, а для сигнальной молекулы достаточно небольшого количества самого субстрата, то есть янтарной кислоты в виде аниона сукцината. Тогда более выраженные терапевтические эффекты сукцинатсодержащих препаратов вполне объяснимы, поскольку появляется дополнительный механизм активации внутриклеточных процессов посредством запуска сигнальных путей.

## Заключение

Курсовое лечение больных с последствиями ЗЧМТ с помощью сукцинатнесодержащих (эмоксипин, рибоксин, метапрот) и сукцинатсодержащих (мексикор, цитофлавин и метапрот плюс) препаратов уменьшает нарушения астенического симптомокомплекса в разной степени. Значимый положительный терапевтический эффект регистрировали для метапрота плюс > цитофлавина > метапрота > мексикора (вещества расположены в порядке убывания активности), то есть сукцинатсодержащие препараты проявили больший положительный эффект в сравнении с сукцинатнесодержащими метаболическими препаратами (эмоксипином и рибоксином). Терапевтическое действие метаболических протекторов заключалось в уменьшении слабости, истощаемости, проявлений вегетативной дисфункции, улучшением настроения и сна, уменьшением тревоги и депрессивности.

Следовательно, сукцинатсодержащие метаболические протекторы (мексикор, цитофлавин, метапрот плюс) при курсовом назначении в течение 2 недель проявляют выраженное антиастеническое действие, заключающееся в нормализации психического состояния и улучшении соматического здоровья пациентов, перенесших ЗЧМТ. Антиастеническое действие этих препаратов в целом выше, чем терапевтические эффекты аналогичных средств, в структуре которых отсутствует янтарная кислоты (эмоксипин, рибоксин, метапрот).

## Литература (references)


1. Бузник Г.В. Повышает ли сукцинат как компонент лекарственного средства эффективность лечения расстройств астенического спектра у пациентов с соматическими травмами? // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2022. – Т.20, №1. – С. 89-98. [Buznik G.V. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii.* Review on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2022. – V.20, N1. – P. 89-98. (in Russian)]
2. Бузник Г.В., Востриков В.В., Шабанов П.Д. Фармакологическая реабилитация больных алкоголизмом в постабстинентном периоде метаболическими средствами, содержащими и не содержащими сукцинат // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №4. – С. 25-34. [Buznik G.V., Vostrikov V.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N4. – P. 25-34. (in Russian)]
3. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Фармакотерапия нарушений астенического спектра у хирургических пациентов и пострадавших с сочетанными травмами с помощью сукцинатсодержащих препаратов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №3. – С. 17-30. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N3. – P. 17-30. (in Russian)]
4. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Сравнение эффективности лечения астенических нарушений вследствие невротических и связанных со стрессом расстройств феназепамом и сукцинатсодержащими метаболическими протекторами // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.17, №3. – С.31-40. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.17, N3. – P. 31-40. (in Russian)]
5. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Сукцинатсодержащие антигипоксанты в лечении астенических расстройств // Известия национальной академии наук Кыргызской Республики. – 2022. – №6. – С. 27-32. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Izvestiya natsional'noy akademii nauk Kyrgyzskoy Respubliki*. News of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic. – 2022. – N6. – P. 27-32. (in Russian)]
6. Бузник Г.В., Шабанов П.Д. Старческая астения, клинические особенности и подходы к лечению (миниобзор) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.19, №3. – С. 142-147. [Buznik G.V., Shabanov P.D. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. Proceedings of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – T.19, N№3. – P. 142-147. (in Russian)]
7. Воронина Т.А. Когнитивные нарушения и ноотропные препараты: механизм действия и спектр эффектов // Нейрохимия. – 2022. – Т.40, №2. – С. 121-131. [Voronina T.A. *Neyrokhimiya*. Neurochemistry. – 2022. – V.40, N2. – P. 121-131. (in Russian)]
8. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов в плазме крови человека // Лабораторное дело. – 1983. – №10. – С. 30-33. [Dubinina E.E., Sal'nikova L.A., Efimova L.F. *Laboratornoe delo*. Laboratory points. – 1983. – N10. – P. 30-33. (in Russian)]
9. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона // Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: ЛГУ, 1982. – С. 183-187. [Putilina F.E. *Metody biochimicheskih issledovanii*. Methods of biochemical studies / Ed. by M.I. Prohorova. – Leningrad: LGU, 1982. – P. 183-187. (in Russian)]
10. Райгородский Д.Я. Практическая психодиагностика (методики и тесты). – Самара: Бахрах, 1998. – 672 с. [Raygorodskiy, D.Ya. *Prakticheskaya psikhodiagnostika (metodiki i testy).* Practical psychodiagnostics (techniques and tests). – Samara: Bakhrakh, 1998. – 672 p. (in Russian)]
11. Стальная И.Д. Метод определения диеновых конъюгатов ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64. [Stal'naya I.D. *Sovremennye metody v biohimii*. Modern methods in biochemistry / Ed. By V.N. Orehovich. – Moscow: Medicine, 1977. – P. 63-64. (in Russian)]
12. Стальная И.Д., Горишвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68. [Stal'naya I.D., Girishvili T.G. *Sovremennye metody v biohimii*. Modern methods in biochemistry / Ed. By V.N. Orehovich. – Moscow: Medicine, 1977. – P. 66-68. (in Russian)]
13. Шабанов П.Д., Бузник Г.В., Байрамов А.А. Фармакотерапия астенического синдрома средствами метаболической терапии: рекомендации для врачей. – СПб.: ВМедА, 2020. – 56 с. [Shabanov P.D., Buznik G.V., Bayramov A.A. *Farmakoterapiya astenicheskogo sindroma sredstvami metabolicheskoy terapii: rekomendatsii dlya vrachey*. Pharmacotherapy of asthenic syndrome by means of metabolic therapy: recommendations for doctors.– SPb.: VMedA, 2020. – 56 p. (in Russian)]
14. Macias-Ceja D.C., Ortiz-Masiá D., Salvador P. et al. Succinate receptor mediates intestinal inflammation and fibrosis. Mucosal Immunology. − 2019. − V12, N1. − P. 178-187.

**Информация об авторах**

*Бузник Галина Викторовна* – кандидат медицинских наук, докторант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: galina.viki@mail.ru

*Зарубина Ирина Викторовна* – доктор биологических наук, профессор, старший преподаватель кафедры фармакологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. E-mail: I.V.Zarubina@list.ru

*Шабанов Петр Дмитриевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры фармакологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. E-mail: pdshabanov@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.12.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 547.262.099:612.398* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.4 EDN: DAGRTE*

# ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК ПОСЛЕ НАСЫЩАЮЩЕГО ТРАНСПОЗОННОГО МУТАГЕНЕЗА ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ *E. COLI*

**© Шаталова Р.О.[2], Захарова М.В.[1], Колосова Е.С.[2], Позднякова-Филатова И.Ю.[1], Тарлачков С.В.[1], Нагорных М.О.[1, 2]**

[1]*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, Пущино, 142290 Россия*

[2]*АНО ВО Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, 354349 Россия*

*Резюме*

**Цель.** Отработка условий проведения транспозонного мутагенеза и получения библиотек для дальнейшего полногеномного анализа на антибиотикоустойчивых мутантах *E. coli*.

**Методика.** Клоны *E. coli*, устойчивые к хинолоновым антибиотикам (налидиксовая кислота и ципрофлоксацин) были отобраны при помощи селекции *in vitro* на соответствующих антибиотиках. Анализ мутаций в генах, обеспечивающих устойчивость к хинолоновым антибиотикам был проведен при помощи ПЦР-анализа, секвенирования и программы VectorNTI. Построение кривых роста для антибиотикорезистентных клонов *E. coli*, а также определение МИК проводили с использованием налидиксовой кислоты и ципрофлоксацина. Транспозонный мутагенез и приготовление библиотек клонов было проведено по оптимизированной методике для бактерий *E. coli*.

**Результаты.** При помощи селекции *in vitro*, были отобраны клоны *E. coli*, устойчивые к хинолоновым антибиотикам. Мутации, обеспечивающие устойчивость к хинолоновым антибиотикам, были проанализированы и картированы при помощи секвенирования по методу Сэнгер. Был проведен сравнительный анализ (построение кривых роста, определение МИК) устойчивых клонов, содержащих разные мутации и их комбинации. На отобранных клонах были подобраны оптимальные условия проведения транспозонного мутагенеза и получения препаратов библиотек геномных ДНК, подходящих для дальнейшего полногеномного анализа.

**Заключение.** В настоящей работе были оптимизированы способы проведения транспозонного мутагенеза и получения библиотек для геномного анализа его результатов на антибиотикоустойчивых формах *E. coli*. Качество получаемых таким способом библиотек удовлетворяет требованиям для проведения полногеномного изучения функциональной роли генов *E. coli* с применением метода Tn-seq.

*Ключевые слова:* транспозонный мутагенез, резистентность к антибиотикам, геномные библиотеки

# PREPARATION OF GENOMIC LIBRARIES AFTER SATURATING TRANSPOSON MUTAGENESIS TO SEARCH FOR GENES AFFECTING THE FITNESS COST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA *E. COLI*

Shatalova R.O.[2], Zakharova M.V.[1], Kolosova E.S.[2], Pozdnyakova-Filatova I.Y.[1], Tarlachkov S.V.[1], Nagornykh M.O.[1,2]

[1]*Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 142290, Pushchino, Russia*

[2]*Sirius University of Science and Technology, Sirius, 354349, Sochi, Russia*

*Abstract*

**Objectives.** Development of conditions for carrying out transposon mutagenesis and obtaining libraries for further genome-wide analysis on antibiotic-resistant *E. coli* mutants.

**Methods.** *E. coli* resistant mutants to quinolone antibiotics (nalidixic acid and ciprofloxacin) were selected using *in vitro* selection on the appropriate antibiotics. Analysis of mutations in genes conferring resistance to quinolone antibiotics was carried out using PCR analysis, sequencing and the VectorNTI program. Construction of growth curves for antibiotic-resistant *E. coli* clones, as well as determination of

MICs, were carried out using nalidixic acid and ciprofloxacin. Transposon mutagenesis and preparation of clone libraries was carried out using an optimized procedure for *E. coli* bacteria.

**Results.** Using *in vitro* selection, *E. coli* resistant clones to quinolone antibiotics were selected. Mutations conferring resistance to quinolone antibiotics were analyzed and mapped using Sanger sequencing. A comparative analysis (construction of growth curves, determination of MIC) of resistant clones containing different mutations and their combinations was carried out. Using selected clones, optimal conditions were selected for carrying out saturating transposon mutagenesis and obtaining genomic DNA library preparations suitable for further genome-wide analysis.

**Conclusion.** As a result of this work, methods for conducting transposon mutagenesis and obtaining libraries for genomic analysis of its results on antibiotic-resistant forms of *E. coli* were optimized. The quality of the libraries obtained in this way meets the requirements for conducting a genome-wide study of the functional role of *E. coli* genes using the Tn-seq method.

*Keywords:* transposon mutagenesis, antibiotic resistance, genomic libraries

## Введение

Проблема возникновения антибиотикоустойчивости у основных бактериальных патогенов остается острой в настоящее время во всем мире [2, 6]. Текущая пандемия усугубила кризис широкого применения антибиотиков в клиниках на фоне осложнений бактериальными инфекциями. Все это ведет к снижению качества жизни больных и, в конечном итоге, к росту смертности от бактериальных инфекций. Для борьбы с этой проблемой существует целый ряд стратегий – от поиска новых антибиотиков до альтернативных антимикробных терапий [1]. Один из способов продлить эффективное использование текущих антибиотиков в клинической практике – это поиск новых мишеней, действие на которые бы усиливало их активность против бактериальных патогенов. Наиболее современным из подходов по поиску подобных мишеней является комбинация насыщающего транспозонного мутагенеза с последующим полногеномным секвенированием (Tn-seq) для определения частоты встройки транспозона в то или иное место бактериального генома [11]. Транспозоны – это мобильные генетические элементы, которые в природе способны перемещаться из одного расположения в геноме в другое. Благодаря тому, что транспозоны удивительно разнообразны по молекулярному составу, они обеспечивают модуляцию экспрессии генов, а также пластичность и эволюцию геномов [9]. В настоящее время транспозоны являются эффективным молекулярным инструментом для исследований функции отдельных генов бактерий, дрожжей и других микроорганизмов. Эффективный, но простой мутагенез in vitro теперь позволяет проводить мутационный анализ антибиотикоустойчивых микроорганизмов, а также выявлять гены, которые имеют важное значение для вирулентности различных патогенов [4]. Такой полногеномный анализ транспозонных вставок после насыщающего мутагенеза является мощным современным инструментом функциональной геномики для оценки важности каждого гена в рамках целого генома бактерии [10]. Благодаря достижениям в области технологий секвенирования ДНК, все последовательности геномов бактерий могут быть определены достаточно просто. Однако, нам все еще нужны инструменты, чтобы уметь связывать генетическую информацию с соответствующими фенотипами, включая фенотипы вирулентных форм, а также устойчивых к антибиотикам фенотипов. Комбинация транспозонного мутагенеза с методами полногеномного секвенирования, а также дальнейший биоинформационный анализ позволяют получить всестороннюю фенотипическую оценку сотен тысяч мутантов одновременно [4, 10]. В методе Tn-seq библиотека мутантов после проведения транспозонного мутагенеза подвергается селекции при определенных условиях либо сам мутагенез уже проводится на отобранных бактериальных клонах, содержащих мутации, дающие, например, устойчивость к определенному классу антибиотиков. Далее вставки транспозонов специфически амплифицируют и секвенируют методами полногеномного секвенирования. Относительная частота транспозонной вставки, на отобранных во время селекции мутантах говорит о вкладе каждого гена в фитнес бактерии. Таким образом, при помощи этого подхода можно идентифицировать большинство, если не все, гены в бактериальном геноме, которые вносят вклад в жизнеспособность бактерии при определенных интересующих условиях. Например, гены, необходимые для устойчивости к системам защиты хозяина при бактериальных инфекциях или устойчивости к действию антибиотиков [11, 12].

Целью данной работы была отработка условий получения геномных библиотек после проведения транспозонного мутагенеза на бактериальных мутантах *E. coli*, устойчивых к антибиотикам. Для этого мы провели *in vitro* селекцию клонов *E. coli*, устойчивых к хинолоновым антибиотикам, которые содержат клинически релевантные мутации. Оптимизировали условия проведения

транспозонного мутагенеза для бактерии *E. coli*. Получили препараты геномных библиотек, пригодные для дальнейшего геномного анализа с применением методов полногеномного секвенирования и биоинформатики.

## Методика

Селекция in vitro мутантов E. coli, устойчивых к хинолоновым антибиотикам. Отбор мутантов E. coli штамма MG1655, устойчивых к хинолоновым антибиотикам, проводили на чашках Петри, содержащих агаризованную питательную среду LB (1,5% агара) с налидиксовой кислотой (20 мкг/мл) или ципрофлоксацином (0,1 мкг/мл) соответственно. На одну чашку высевали 2-4×$10^8$ клеток (0,1-0,2 мл культуры). Для дальнейшего картирования мутаций, обеспечивающих устойчивость к антибиотикам, отбирали 24 индивидуальных колонии, которые далее анализировали секвенированием. Очистку колоний проводили рассевом штрихом на чашки с той же селективной средой через несколько пассажей.

Секвенирование генов, мутации в которых обеспечивают устойчивость к хинолоновым антибиотикам. Фрагменты ДНК амплифицировали ПЦР со специфических праймеров (табл. 1) с использованием высокоточной ДНК-полимеразы Q5 (NEB) по протоколу производителя. В качестве матрицы для ПЦР использовался бактериальный лизат отобранных клонов, содержащий геномную ДНК. Для этого аликвоту бактериальной биомассы ресуспендировали в воде и прогревали при 950С в течение 5 минут. Далее этот фрагмент был обработан реагентом для очистки продуктов ПЦР ExoSAP-IT (Thermo). После этого очищенный препарат ДНК фрагментов секвенировали по Сэнгеру. Секвенирование по Сэнгеру проводилось на приборе AB3500, с использованием коммерческого набора для секвенирования BigDye Terminator 3.1 (Applied Biosystems). Полученные результаты реакций секвенирования анализировали при помощи пакета программ Vector NTI. В качестве референсных были использованы нуклеотидные последовательности соответствующих генов из баз данных Uniprot и NCBI.

Таблица 1. Праймеры для амплификации генов, кодирующие субъединицы ДНК-гиразы (*gyrA, gyrB*) и топоизомеразы IV (*parC, parE*), мутации в которых приводят к устойчивости к хинолоновым антибиотикам

| | |
|---|---|
| gyrA_f | CGAGTATATCAGGCATTGGATGTG |
| gyrA_r | CCTAATACGACAAAAGCCCAGAC |
| gyrB_f | CAGTGCTGAACACGTTATAGACATG |
| gyrB_r | CCTACAAAATCATGAAAATTCAATAC |
| parC_f | CAGCAAAGAGTTGTATATCAAGG |
| parC_r | GCGTATTGTTAATCGCAACGCATG |
| parE_f | CAGGCGGTGGCGTACTACGCTTC |
| parE_r | GATTCTATCGTGATGATTGAGC |

Построение кривых роста и определение МИК (минимальная ингибирующая концентрация). Для отобранных клонов, устойчивых к ципрофлоксацину и налидиксовой кислоте измеряли кривые роста и определяли МИК. В качестве инокулята использовали 2 мкл ночной культуры, конечная концентрация клеток в ночной культуре составила 8×$10^8$ КОЕ/мл. Клетки культивировали в 24х-луночном планшете (Greiner Bio-One, Австрия) в 1 мл среды LB (Lysogeny broth) на планшетном спектрофотометре SPECTROstar Nano (BMG LABTECH, Германия) при следующих параметрах: температура культивирования 37°С, перемешивание 100 оборотов в минуту, длина волны, при которой проводили измерение оптической плотности – 600 нм, время культивирования – 12 ч. Каждый образец измеряли в 2-х биологических повторах. Далее сравнивали паттерны кривых роста. МИК определяли методом последовательных разведений среды LB, содержащей соответствующий антибиотик. Далее вносили инокулят (2 мкл ночной культуры бактерий), после инкубации в течение 12-14 ч. определяли МИК в лунках планшета, где рост бактериальной культуры отсутствовал. Подтверждая это результатом отсутствия роста на чашках с агаризованной средой LB без антибиотика.

Транспозонный мутагенез и приготовление геномных библиотек. Транспозонный мутагенез осуществляли при помощи конъюгации со штаммом-донором, содержащим плазмиду с транспозонным элементом, что приводило к образованию пула бактерий, насыщенного мутациями. В качестве донорного, использовали штамм *E. coli* MFDpir, содержащий плазмиду с

транспозонным элементом pSC189 (также обеспечивает устойчивость к канамицину и ампициллину). Этот штамм является ауксотрофом по 2,6-диаминопимилиновой кислоте (DAP), добавка которой в питательную среду необходима для его роста. Так, MFDpir-pSC189 растили в присутствии 0,3 мМ DAP (стоковый раствор 0,1М в 1н HCl). Штамм реципиент (отобранные клоны *E. coli* MG1655) растили в присутствии селектирующего антибиотика. Далее ночные культуры штамма-донора и штамма-реципиента были промыты при помощи свежей культуральной средой для отмывки от антибиотиков, на которых росли культуры ночью. После отмывки смешивали культуру штамма-донора и штамма-реципиента в соотношении 1:2 и растирали на чашки Петри для инкубации при $30^0$С в течение 2-х часов. По окончании инкубации, бактериальные клетки собирали шпателем и ресуспендировали в среде LB без DAP для обратной селекции, направленной против клеток штамма-донора. После инкубации в LB делали разведение клеток и осуществляли селекцию на чашках с агаризованной средой в присутствии канамицина без DAP. Выделение суммарной геномной ДНК осуществляли при помощи доступных коммерческих наборов. Образцы библиотек геномной ДНК хранили на -70°С для последующего анализа.

## Результаты исследования и их обсуждение

Развитие генетики во многом было связано с изучением генетического аппарата бактерий, а также определением функций и регуляции отдельных генов. Полногеномное секвенирование и связанные с ним методологии значительно ускорили изучение генетики микроорганизмов. Однако выявление функций отдельных генов и их значения для физиологии бактерий остается проблемой до сих пор. Традиционный транспозонный мутагенез представляет собой метод по идентификации вклада отдельных генов в фенотипические характеристики конкретного микроорганизма. Его использование в сочетании с подходами полногеномного секвенирования (Tn-seq) может точно выявить гены, ответственные за определенные физиологические функции в тех или иных условиях существования бактерий [10]. Такой подход применим для выяснения роли сразу многих генов в различных аспектах жизнедеятельности и приспособляемости бактерий, в том числе переходе в вирулентное состояние, а также во время приобретения устойчивости к антибиотикам. Основой этого мощного методологического подхода является получение геномных библиотек, пригодных для дальнейшего геномного анализа.

По последним данным *E. coli* является бактериальным патогеном, являющимся одним из лидеров по причине смертности среди населения [2]. Использование антибиотиков, относящихся к лактамам привело к возникновению штаммов устойчивых к их действию. По этой причине, в последнее время в клинике часто используются антибиотики, относящиеся к другим классам, в том числе хинолоновые производные. Устойчивость ко многим антибиотикам часто обеспечивается точечными мутациями в определенных генах, которые кодируют белковые мишени для этих антибиотиков [14]. Так, действие хинолонов основано на ингибировании двух бактериальных топоизомераз: ДНК-гиразы (топоизомераза II) и топоизомеразы IV. Топоизомеразы – это ферменты, отвечающие за расплетение ДНК в таких ключевых биологических процессах как репликация и транскрипция, где необходимо снятие состояния сверхспирализации молекул ДНК. Два основных фермента этого класса состоят из двух разных субъединиц и кодируются четырьмя генами (*gyrA, gyrB, parC, parE*). Основные клинически значимые мутации, обеспечивающие значительную устойчивость к хинолоновым антибиотикам, локализуются в двух генах – *gyrA* и *parC.* Эти мутации обычно возникают в определенных местах внутри генов, которые обуславливают устойчивость к хинолонам, так называемом хинолоновом кармане продуктов этих генов. Для генов *gyrA* и *parC* это в основном нуклеотидные последовательности, кодирующие 83-87 аминокислоты [7, 13].

Для проведения *in vitro* селекции устойчивых клонов *E. coli* были выбраны два хинолоновых антибиотика – налидиксовая кислота и ципрофлоксацин. Налидиксовая кислота представляет собой синтетический хинолон и оказывает местное антибактериальное действие за счет ингибирования ДНК-гиразы, тем самым подавляя синтез ДНК во время репликации бактерий дозозависимым образом. Этот антибиотик активен в отношении большинства грамотрицательных микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей. Ципрофлоксацин является фторхинолоновым антибиотиком второго поколения, который широко используется в терапии бактериальных инфекций мочевыводящих путей и дыхательных путей легкой и средней степени тяжести [7, 13].

Селекция проводилась с использованием штамма *E. coli* MG1655, который выращивали в жидкой питательной среде LB при $37^0$С в течение 12 ч. Далее для отбора мутантов, устойчивых к хинолоновым антибиотикам, использовали свежую бактериальную культуру, а также чашки с агаризованной средой LB (1,5% агара), содержащие налидиксовую кислоту (20 мкг/мл) и

ципрофлоксацин (0,1 мкг/мл) соответственно. На одну чашку высевали 2-4x$10^8$ клеток (0.1–0.2 мл культуры). Для последующего анализа мутаций, обеспечивающих устойчивость к антибиотикам, отбирали по 12 индивидуальных колоний. Очистку колоний проводили рассевом штрихом на чашки с той же селективной средой (Рис. 1А, 1Б). Так, полученные клоны были очищены при помощи нескольких пересевов на чашки с соответвтующими антибиотиками. Далее клоны анализировали при помощи ПЦР и секвенирования последовательностей ДНК генов, кодирующих субъединицы ферментов-мишеней для хинолоновых антибиотиков.

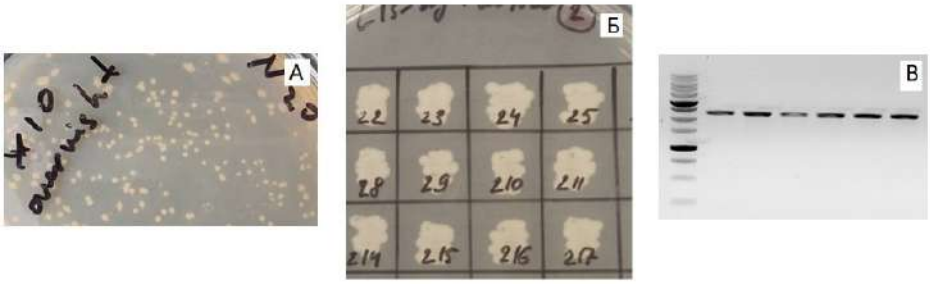



Рис.1. Селекция и ПЦР-скрининг *in vitro* мутантов *E. coli*, устойчивых к хинолоновым антибиотикам: чашка Петри с первичными клонами, устойчивыми к налидиксовой кислоте (А) и эти же клоны, после нескольких пассажей на агаризованной среде, содержащей налидиксовую кислоту (Б). Амплификация ДНК-фрагментов, соответствующих генам (на иллюстрации *gyrA*), мутации в которых обеспечивают устойчивость бактерий к хинолоновым антибиотикам (В)

Известно, что основной вклад в устойчивость к хинолоновым антибиотикам вносят точечные мутации в генах *gyrA, gyrB, parC, parE*, кодирующих субъединицы ДНК-гиразы (топоизомераза II) и топоизомеразы IV [7, 13]. Эти данные подтверждаются результатами скрининга отобранных нами клонов, устойчивых к налидикосовой кислоте и ципрофлоксацину с обнаруженными одиночными и двойными мутациями. Для подтверждения точечных мутаций в генах, которые обеспечивают устойчивость к исследуемым антибиотикам, проводили секвенирование последовательностей ПЦР-фрагментов, соответствующих этим генам. Фрагменты ДНК амплифицировали ПЦР со специфических праймеров (табл. 1), где в качестве матрицы использовали геномную ДНК из бактерий устойчивых клонов (рис. 1В). Далее фрагменты ДНК секвенировали и анализировали результаты относительно референсных последовательностей из базы данных Uniprot. Интересно, что в отобранных клонах мутации были обнаружены только в нуклеотидной последовательности гена *gyrA* и соответствующей ей аминокислотной последовательности ДНК-гиразы (GyrA), полученных в ходе сиквенсных реакций (рис. 2).

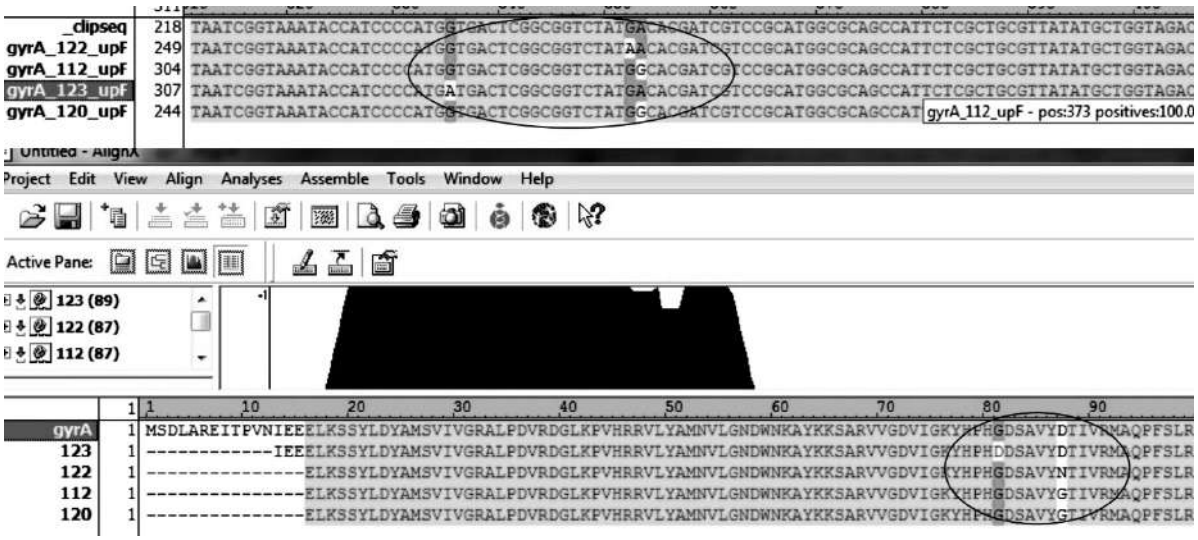



Рис. 2. Анализ последовательностей ДНК гена, кодирующих субъединицу ДНК-гиразы (*gyrA*) и поиск мутаций (позиции аминокислот 81 и 87), которые обеспечивают устойчивость к хинолоновым антибиотикам

Выявленные мутации были картированы и внесены в таблицу. Большая часть устойчивых бактериальных клонов содержали единичные аминокислотные замены в районе хинолонового кармана ДНК-гиразы, однако, были обнаружены несколько клонов с двойными заменами аминокислот, которые были приобретены бактериями под воздействием ципрофлоксацина (табл. 2).

Таблица 2. Суммарная таблица по анализу клонов, устойчивых к хинолоновым антибиотикам (налидиксовая кислота – *n* и ципрофлоксацин – *c*). Среди клонов, отобранных при селекции на ципрофлоксацине, есть несколько с двойными мутациями в гене *gyrA*, полученные при селекции на ципрофлоксацине.

| Мутация *gyrA* | Мутация *gyrB* | Мутация *parC* | Мутация *parE* | Номер клона |
|---|---|---|---|---|
| D87V | - | - | - | 1c, 6n |
| D87N | - | - | - | 2c,4n,22c, 12n |
| D87G | - | - | - | 6c,10c,11c,15c,17n,19n,12c,20n,7n,13n, 5n |
| D87Y | - | - | - | 24c |
| G81D | - | - | - | 23c |
| D83G / G816A | - | - | - | 8c, 7c, 9c |
| D87G / N818H | - | - | - | 3c, 5c |

Для всех полученных антибиотикоустойчивых клонов были построены кривые роста и посчитаны минимальные ингибирующие концентрации (МИК). Так, для отобранных 12 устойчивых к ципрофлоксацину клонов, МИК ципрофлоксацина для всех тестируемых вариантов составила 1,6 мкг/мл, различий в паттерне кривых роста при концентрации антибиотика 0,5 мкг/мл отмечено не было (рис. 3А). Схожие результаты были получены для 12 устойчивых к налидиксовой кислоте клонов. МИК налидиксовой кислоты для всех тестируемых вариантов составила >640 мкг/мл, но различий в характере кривых роста при концентрации антибиотика 20 мкг/мл обнаружено не было. Это может указывать на то, что, по-видимому, мутации в остальных генах встречаются реже и дают дополнительную устойчивость к хинолоновым антибиотикам, которая будет отражаться в отличиях кривых роста и МИК для таких клонов.

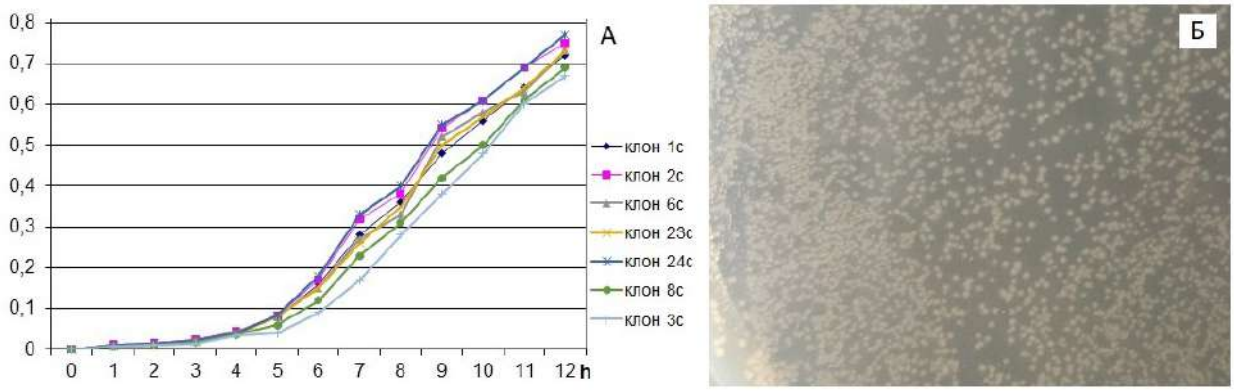



Рис. 3. Анализ кривых роста клонов, устойчивых к ципрофлоксацину при концентрации антибиотика 0,5 мкг/мл (А). Типичный результат оптимальной плотности высева бактериальной культуры на агаризованную среду LB после проведения транспозонного мутагенеза для получения библиотек, пригодных для дальнейшего геномного анализа (Б)

Для проведения транспозонного мутагенеза и оптимизации условий получения библиотек бактериальных клеток с хорошей представленностью были взяты несколько клонов, устойчивых к хинолоновым антибиотикам, как с одиночными, так и с двойными мутациямив в гене *gyrA*. Выбранные клоны выступали в качестве штамма-реципиента, для проведения конъюгации с штаммом-донором, содержащим плазмиду с транспозонным элементом, что приводило к образованию пула, насыщенного мутациями. В качестве донорного, использовали штамм *E. coli* MFDpir, который является ауксотрофом по 2,6-диаминопимилиновой кислоте (DAP) и содержит плазмиду с транспозонным элементом pSC189. После смешивания двух объемов культур штамма-

реципиента и штамма-донора, полученную смесь растирали на чашки Петри для инкубации при $30^0$С в течение 2-х ч. После инкубации, бактериальные клетки аккуратно собирали шпателем и ресуспендировали в питательной среде LB без добавки DAP для обратной селекции, чтобы убрать штамм-донор из клеточной массы. После инкубации в питательной среде делали разведение клеток и осуществляли селекцию на чашках с агаризованной питательной средой LB в присутствии канамицина без DAP. На рис. 3Б приведена типичная чашка Петри с результатами финальной селекции после конъюгации штамма-донора и штамма-реципиента, которая отражает примерную плотность колоний на агаризованной питательной среде для сбора оптимальных библиотек. Как правило, таких чашек должно быть значительное количество (несколько десятков на один эксперимент по конъюгации) для полноты библиотеки, получаемой в результате транспозонного мутагенеза. С полученных чашек собирали биомассу и далее выделяли суммарную геномную ДНК при помощи коммерческих наборов. Необходимое условие дальнейшей успешной подготовки амплификационных библиотек для полногеномного секвенирования – это приемлемое количество ДНК (от 1 мкг и более), а также качество препарата с соотношением ОП 260: ОП 280 – не менее 1,8. Представленность же библиотеки определяется количеством собранных клонов, с оптимальным количеством от 100 000 до 500 000 колоний. Образцы суммарной геномной ДНК можно хранить несколько месяцев на -$70^0$С до последующего анализа с помощью подходов полногеномного секвенирования (NGS). Такой протокол базируется на ранее представленных методах проведения Tn-seq и является оптимизацией по количеству сбора колоний для библиотеки, а также количеству препарата геномной ДНК для приготовления амплификационных геномных библиотек [11]. В частности, он подходит для проведения транспозонного мутагенеза и дальнейшего полногеномного анализа его результатов на бактерии *E. coli*, по аналогии с ранее представленными протоколами для грамотрицательных бактерий [8, 3].

## Выводы

Одним из перспективных подходов в борьбе с проблемой распространения устойчивости к антибиотикам является поиск новых белковых мишеней для создания химических ингибиторов, которые бы усиливали действие антибиотиков, которые сейчас применяются в клинике [5]. На начальном этапе такого поиска применяется современный комплексный подход, комбинирующий транспозонный мутагенез и геномный анализ (Tn-seq). Этот способ позволяет определить гены, которые вносят вклад в жизнеспособность антибиотикоустойчивых бактерий. В настоящей работе нами была проведена селекция *in vitro* для получения мутантных форм *E. coli*, устойчивых к двум хинолоновым антибиотикам (налидиксовая кислота и ципрофлоксацин). Так, были отобраны клоны, содержащие клинически значимые мутации в генах, продукты которых являются мишенями для действия хинолоновых антибиотиков. На отобранных клонах, устойчивых к хинолоновым антибиотикам была оптимизирована методика проведения транспозонного мутагенеза и получения геномных библиотек на бактерии *E. coli*. В результате были выделены образцы суммарной геномной ДНК для дальнейшего полногеномного секвенирования и биоинформационного анализа полученных данных. Таким же способом можно готовить геномные библиотеки для любых экспериментальных работ по определению функций широкого круга генов *E. coli*, где используется метод Tn-seq.

## Литература (references)


1. Aminov R. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future // Frontiers in Microbiology – 2010. – V.8(1). – P. 134.
2. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // Lancet. – 2022. – V.399(10325). – P. 629-655.
3. Basta DW, Bergkessel M, Newman DK. Identification of Fitness Determinants during Energy-Limited Growth Arrest in *Pseudomonas aeruginosa* // mBio – 2017. – V.8(6). - e01170-17.
4. Cain AK, Barquist L, Goodman AL, Paulsen IT, Parkhill J, van Opijnen T. A decade of advances in transposon-insertion sequencing // Nature Reviews Genetics. – 2020. – V.21(9). – P. 526-540.
5. Chawla M, Verma J, Gupta R, Das B. Antibiotic Potentiators Against Multidrug-Resistant Bacteria: Discovery, Development, and Clinical Relevance // Frontiers in Microbiology. – 2022. – V.13. – P. 887251.
6. Darby EM et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited // Nature Reviews Microbiology. – 2023. – 21(5). – P. 280-295.

7. Hooper DC, Jacoby GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2015. – V.54(1). – P. 12-31.
8. Kazi MI, Schargel RD, Boll JM. Generating Transposon Insertion Libraries in Gram-Negative Bacteria for High-Throughput Sequencing // Journal of Visualized Experiments. – 2020. – V.161:10.3791/61612.
9. Nina V. Fedoroff Transposable Elements, Epigenetics, and Genome Evolution // Science. – 2012. – V.338. – P. 758-767.
10. van Opijnen T, Bodi KL, Camilli A. Tn-seq: high-throughput parallel sequencing for fitness and genetic interaction studies in microorganisms // Nat Methods. – 2009. – V.6(10). – P. 767-772.
11. Rasouly A. et al. Analysing the fitness cost of antibiotic resistance to identify targets for combination antimicrobials // Nat Microbiology. – 2021. – V.6(11). – P. 1410-1423.
12. Roux D. et al. Fitness cost of antibiotic susceptibility during bacterial infection // Science Translational Medicine. – 2015. – V.7(297):297ra114.
13. Tang K, Zhao H. Quinolone Antibiotics: Resistance and Therapy // Infection and Drug Resistance. – 2023. – V.16. – P. 811-820.
14. Urban-Chmiel R, Marek A, Stępień-Pyśniak D, Wieczorek K, Dec M, Nowaczek A, Osek J. Antibiotic Resistance in Bacteria - A Review // Antibiotics (Basel). – 2022. – V.11(8). – P. 1079.

**Информация об авторах**

*Шаталова Римма Олеговна* – младший научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов НЦТМ, АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус». E-mail: shatalova.ro@talantiuspeh.ru

*Захарова Марина Викторовна* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН. E-mail: zemskovam@mail.ru

*Колосова Елена Сергеевна* – старший специалист лаборатории генетики микроорганизмов НЦТМ, АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус». E-mail: kolosova.es@talantiuspeh.ru

*Позднякова-Филатова Ирина Юрьевна* – младший научный сотрудник, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН. E-mail: irafilatova24@gmail.com

*Тарлачков Сергей Владимирович* – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН. E-mail: sergey@tarlachkov.ru

*Нагорных Максим Олегович* – заведующий лабораторией генетики микроорганизмов НЦТМ, АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус». E-mail: nagornyh.mo@talantiuspeh.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Работа выполнена при поддержке программы Министерства высшего образования и науки РФ (соглашение №075-10-2021-113, уникальный номер проекта RF----193021X0001).

Поступила 01.12.2023

Принята к печати 15.12.2023

ОБЗОРЫ

*УДК 616.43* 3.3.3 Патологическая физиология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.5 EDN: DJXELA*

# НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ КАК МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

**© Быков Ю.В.[1,2], Батурин В.А.[1]**

[1] *Ставропольский государственный медицинский университет, 355017, Россия, Ставрополь, ул. Мира, 310*

[2] *Городская детская клиническая больница им. Г.К. Филиппского, 355002, Россия, Ставрополь, ул. Пономарева, 5*

*Резюме*

**Цель.** Анализ результатов научных исследований по обнаружению нейроспецифических белков (НСБ) в качестве биомаркеров повреждения головного мозга при сахарном диабете (СД).

**Методика.** Обзор научной литературы выполнен в базах данных PubMed, Scopus, eLibrary с помощью поиска литературных источников по данной тематике. Из отобранных публикаций для анализа были использованы наиболее значимые отечественные и зарубежные работы за 15 лет.

**Результаты.** Диабетическая энцефалопатия (ДЭ) является одним из серьезных и долгосрочных осложнений СД. Нейропсихологические тесты для диагностики ДЭ далеки от совершенства, поэтому сегодня ведется активный поиск лабораторных специфических маркеров при данном осложнении. НСБ являются маркерами повреждения головного мозга при многих неврологических и психических заболеваниях и могут рассматриваться в качестве индикаторов ДЭ при СД. Наиболее значимыми НСБ в диагностике повреждения головного мозга являются: белок S100, глиальный фибриллярный кислый белок, нейронспецифическая энолаза, основной белок миелина и нейротрофический мозговой фактор. Обнаружено повышение концентрации данных НСБ при СД как 1, так и 2 типа, что подтверждает наличие ДЭ по ходу течения заболеваний.

**Заключение.** Включение НСБ в диагностический арсенал при СД, позволит своевременно диагностировать ДЭ и принять меры по ее медикаментозной коррекции, что приведет к минимизации мозговой дисфункции и улучшению качества жизни пациентов.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, диабетическая энцефалопатия, нейроспецифические белки

# NEURON-SPECIFIC PROTEINS AS MARKERS OF BRAIN DAMAGE IN DIABETES MELLITUS

Bykov Yu.V.[1,2], Baturin V.A.[1]

[1]*Stavropol State Medical University, 310, Mira St., 355017, Stavropol, Russia*

[2]*Children's City Clinical Hospital named G. K. Filippsky, 5, Ponomareva St., 355002, Stavropol, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To analyze the results of scientific studies dedicated to detection of neuron-specific proteins (NSP) serving as biomarkers of brain damage in diabetes mellitus (DM).

**Methods.** Papers related to the topic were found using the PubMed, Scopus and eLibrary databases, and a literature review was performed. From the body of selected papers, the most impactful Russian and foreign publications published over the last 15 years were used for analysis.

**Results.** Diabetic encephalopathy (DE) is one of the most severe and long-lasting complications of DM. Neuropsychological tests used to diagnose DE are far from perfect, that's why there is an ongoing active search for laboratory markers specific to this complication. NSP are markers that reflect brain damage in numerous neurological and psychiatric disorders, and may be viewed as indicators of DE in DM. The most significant NSP for detecting brain damage are the S100 protein, glial fibrillary acidic protein, neuron-specific enolase, myelin basic protein, and brain-derived neurotrophic factor. These NSP were found to be elevated in both type 1 and type 2 DM, which confirms the occurrence of DE in these diseases.

**Discussion.** Inclusion of NSP as part of the diagnostic toolkit in DM would allow doctors to diagnose DE and take steps towards its correction in a timely manner, minimizing the severity of brain dysfunction and improving patients' quality of life.

*Keywords*: diabetes mellitus, diabetic encephalopathy, neuron-specific proteins

## Введение

Сахарный диабет (СД) является хроническим заболеванием, для которого характерно повышение уровня глюкозы и недостаточность выработки или действия инсулина [2]. Одними из распространённых форм данного заболевания являются СД 2 типа, на который приходится около 90% всех случаев и СД 1 типа, который диагностируется только в 10% и в основном характерен для детей и подростков [2]. Ежегодно, во всем мире отмечается неуклонный рост заболеваемости СД как 1, так и 2 типа [32]. СД 2 типа характеризуется неадекватным ответом на инсулин (снижение чувствительности к инсулину) и формированием резистентности к инсулину [6]. СД 1 типа возникает в результате дисфункции β-клеток поджелудочной железы (ПЖ), в первую очередь за счет аутоиммунного процесса, в результате чего снижается выработка эндогенного инсулина [5]. Несмотря на все более совершенные инструменты для контроля и регулирования уровня глюкозы в крови, процент удовлетворительного метаболического контроля при данном заболевании остается низким, что ведет к возникновению большего количества диабетических осложнений [32]. Хорошо известно, что на фоне СД, развиваются различные микро- и макрососудистые осложнения, в том числе и дисфункция центральной нервной системы (ЦНС) [1, 2, 32]. Исследования нарушений высших мозговых функций при СД проводятся достаточно давно, и наиболее часто они трактуются под термином «диабетическая энцефалопатия» (ДЭ) [9]. В настоящее время ДЭ понимается как стойкая церебральная патология, возникающая под воздействием острых и хронических диабетических нарушений, которая клинически проявляется снижением обучаемости и скорости обработки информации, мнестическими расстройствами и нарушением внимания [2, 9]. Патофизиологические механизмы ДЭ и ее диагностические критерии на данный момент пока еще далеки от полного понимания и являются актуальным направлением современной эндокринологии [1, 2].

Целью обзора явилось освещение нейроспецифических белков (НСБ), как возможных маркеров повреждения мозговой ткани при СД, в качестве возможного диагностического инструмента выявления ДЭ.

## Методика

Обзор выполнен в базах данных PubMed, Scopus, eLibrary с помощью поиска литературных источников по данной тематике. Из отобранных публикаций для анализа были использованы наиболее значимые публикации последних лет.

### Роль нейроспецифических белков в диагностике повреждения головного мозга

Учитывая определенный субъективизм нейропсихологических тестов, которые используются для диагностики ДЭ, сегодня ведется активный поиск специфических и лабораторных маркеров повреждения головного мозга при СД, среди которых большее внимание уделяется НСБ [7, 8, 13]. К основным НСБ, указывающим на повреждение головного мозга различной этиологии в первую очередь относят: белок S100, глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ), нейронспецифическая энолаза (НСЭ), основной белок миелина (ОБМ) и нейротрофический мозговой фактор (BDNF) [8, 13, 26, 31]. Достаточно давно и хорошо известно, что изменение уровней НСБ отмечается при различных травматических, онкологических и метаболических заболеваниях [7, 9]. Повышение содержания НСБ в крови и спинномозговой жидкости (СПЖ) указывает на повреждение головного мозга, что позволяет дать прижизненную оценку дисфункции ЦНС [8]. НСБ также могут быть маркерами повреждений головного мозга и при СД, например, при отеке мозга на фоне диабетического кетоацидоза (ДКА) или при гипогликемических состояниях [9].

В физиологических условиях (с интактным ГЭБ) НСБ различной молекулярной массы (например, S100B и НСЭ) не пересекают ГЭБ [29]. На проницаемость ГЭБ могут повлиять различные дисфункции в работе головного мозга: нарушение мозгового кровообращения, черепно-мозговая травма, нервные и психические заболевания, а также тяжелый или длительный стресс [26]. Показано, что основная часть НСБ по сути является аутоантигенами, которые, попадая в кровоток, могут вызывать появление аутоантител (ААТ), которые при нарушении функции ГЭБ попадают в головной мозг и вызывают морфологические изменения, нейродегенерацию, а также развитие отека или воспаления в мозговых структурах [1, 7]. Именно поэтому при нарушении ГЭБ уровень этих белков в крови можно использовать в качестве маркера повреждения головного мозга, в том числе и при ДЭ [23].

**Нейроспецифические белки как маркеры поражения головного мозга при сахарном диабете**

На сегодняшний день показано, что НСБ, являются специфичными биомаркерами как для поражения нервной ткани, так и для деструкции клеток ПЖ [26]. Предполагается, что аутоиммунная Т-клеточная атака на фоне СД, приводит к нарушению проницаемости ГЭБ, и направлена как на клетки ЦНС, так и на β-клетки ПЖ [26]. Во время ДКА у большинства пациентов наблюдается повышение проницаемости для головного мозга, на фоне отека и нарушения проницаемости ГЭБ [22]. Хотя механизмы, лежащие в основе увеличения проницаемости ГЭБ при ДКА, до сих пор неясны, предполагается, что ДКА может нарушать проницаемость ГЭБ посредством воспалительных и иммунологических реакций [19]. Кроме того, многие другие факторы, такие как активность матриксной металлопротеиназы, гипергликемия и введение инсулина, связаны с повышенной проницаемостью ГЭБ при СД [22]. В некоторых исследованиях повышенный сывороточный уровень ААТ к некоторым НСБ были обнаружены у пациентов с СД 1 типа, что может быть вызвано транслокацией данных белков из нейрональной ткани в кровоток из-за нарушения проницаемости ГЭБ [14, 26]. У пациентов с СД 1 типа детского возраста был выявлен высокий уровень НСБ, который коррелировал с декомпенсацией углеводного обмена, снижением когнитивной функции и качеством жизни пациентов [8]. Рассмотрим основные представители НСБ в рамках СД и ДЭ более подробно.

**Белок S-100**

Белок S100B продуцируется преимущественно астроцитами головного мозга и является маркером активации астроглии, опосредующим свои эффекты взаимодействием с рецепторами конечных продуктов гликозилирования [9]. К настоящему времени выделено более 20 различных мономеров этого белка [12]. Два из этих мономеров: S100α1β и S100ββ - обнаруживаются преимущественно в клетках нейроглии (глиальные клетки - астроциты и шванновские клетки), а также в других клетках - меланоцитах, адипоцитах, хондроцитах, клетках ПЖ [12]. Показано, что повышение этого НСБ наблюдается при повреждении или некрозе астроцитов, что сопровождается пассивной секрецией белка S100 из клеток [19]. Другими авторами приводятся данные, что повышение концентрации S100A1 и S100B коррелирует с объемом поражения головного мозга [11]. Известно, что белок S100B проявляет нейротрофическую активность при физиологической концентрации и нейротоксическую – при высокой концентрации [11]. Некоторые авторы рассматривают белок S100β как аналог С-реактивного белка в качестве воспалительного маркера повреждения головного мозга [34].

Повышение уровня белка S100 в крови у пациентов с СД рассматривается как результат развития реактивного глиоза и повышенной проницаемости ГЭБ, вызванных гипергликемией и церебральной гипоксией [10]. Имеются сведения о роли белков S100A1 и S100B в развитии энцефалопатии при СД [11]. При повышении белка S100 можно было ожидать иммунологического ответа в виде изменения уровней специфических ААТ к нему. Так, в экспериментах на животных показано повышение уровня ААТ к белку S100 при СД 2 типа [26]. Другими авторами обнаружено увеличение IgG ААТ к белку S-100B у детей с тяжелым течением СД 1 типа на фоне ДКА и отека головного мозга, что подтверждают данные о том, что повышенное содержание ААТ к белку S-100B является критерием повреждения мозговой ткани и служит маркером развития ДЭ [3]. В других работах также продемонстрировано, что повышение белка S100, является критерием хронического СД 1 типа, на фоне ДКА, что является подтверждением поражения головного мозга и гибели нейронов [27], в том числе и в детском возрасте [24]. Показано, что раннее определение и контроль уровня S100, позволяют выявить и подтвердить наличие повреждений мозга на ранней стадии заболевания, когда еще возможно успешное лечение СД [15]. В связи с этим, белок S100 у пациентов с СД 1 типа следует считать возможным показателем когнитивного дефицита, вследствие чего рекомендуется определение данного НСБ пациентам с СД 1 типа, у которых не достигнуты целевые значения углеводного обмена, имеется снижение комплаенса и качества жизни, а также нарушений когнитивных функций [8].

**Нейронспецифическая энолаза**

НСЭ – это гликолитический фермент, который находится в нейронах и нейроэндокринных клетках, ее физиологическая роль заключается в регуляции роста и развития нервных клеток [20]. НСЭ, которая катализирует превращение 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват, может выступать в качестве важного биомаркера повреждения головного мозга [25]. Определение уровня НСЭ при повреждении ЦНС дает возможность судить о степени выраженности повреждений нейронов и нарушении мембранной функции ГЭБ [7]. Известно, что возникновение и развитие различных патологических процессов, сопровождающихся гибелью нейронов, приводит к попаданию этого НСБ в кровоток и длительной циркуляции в крови [35]. Показано, что уровни НСЭ в сыворотке крови и СПЖ положительно коррелируют с поражением нейронов, что может косвенно свидетельствовать о степени поражения ЦНС, именно поэтому данный НСБ считается достаточно чувствительным маркером повреждения нейронов при многих заболеваниях ЦНС [20, 37]. Сообщалось, что высокие уровни глюкозы связаны с повышенными концентрациями НСЭ в сыворотке крови у пациентов с инсультом [25]. Было показано, что уровни НСЭ в сыворотке крови повышены у пациентов с СД и особенно сильно повышены у пациентов с диабетической невропатией [33]. В данном исследовании показано, что что сывороточная СНЭ повышена при ДКА у детей с СД 1-го типа и коррелирует с тяжестью гипергликемии, кетоза и ацидоза [21]. Ожидается, что этот биомаркер будет объективным индикатором когнитивных нарушений у пациентов с СД [37].

**Глиальный фибриллярный кислый белок**

ГФКБ является основной промежуточной нитью в зрелых астроцитах ЦНС и прототипом антигена в дифференцирующей нервной ткани [30]. Именно реактивные астроциты демонстрируют интенсивный синтез ГФКБ [17]. ГФКБ необходим для формирования стабильных астроцитарных процессов в ответ на повреждение нейронов, и это может иметь решающее значение для морфогенеза ЦНС [17]. Изменение уровней ГФКБ было предложено в качестве показателя реактивного глиоза [17]. В последние годы стало известно, что ГФКБ является не только маркером повреждения головного мозга, но и деструкции β-клеток ПЖ [30]. СД, изменяет выработку ГФКБ, который являются маркером реактивного астроцитоза [17]. Кроме того, у пациентов либо с СД 1 типа, либо с СД 2 типа, достаточно активно экспрессируются ААТ к ГФКБ, которые сохраняется в течение многих лет [30]. Помимо этого, ГФКБ может являться качественным маркером повреждения ЦНС при СД 2 типа, которое может являться важной диагностической стратегией для улучшения оценки когнитивных нарушений и последующего лечения данного заболевания [16]. В данном исследовании была выявлена положительная корреляционная связь между параметрами углеводного обмена с повышенным уровнем ГФКБ у детей с СД 1 типа [9]. В экспериментах на животных показано увеличение общего содержания ГФКБ в тканях головного мозга крыс, страдающих СД, по сравнению с контрольной группой [17].

**Основной белок миелина**

ОБМ является специфичным для олигодендроцитов белком, необходимым для морфогенеза олигодендроцитов на поздних стадиях дифференцировки клеток [18]. Имеются данные о том, что морфогенетическая функция ОБМ опосредована взаимодействием данного белка с цитоскелетом [18]. ОБМ – это маркер повреждения олигодендроцитов, которые представляют собой группу глиальных клеток, локализующихся в ЦНС и участвующих в миелинизации аксонов ЦНС [7, 36] и является вторым наиболее распространенным белком в миелине ЦНС [36]. При разрушении миелиновой оболочки концентрация ОБМ возрастает в сыворотке крови и СПЖ [7]. Повышенные уровни ОБМ в сыворотке крови наблюдаются при черепно-мозговой травме, в то время как повышенные уровни этого маркера в СПЖ были обнаружены при рассеянном склерозе, доброкачественных и злокачественных внутричерепных опухолях, инфекциях ЦНС и нарушениях мозгового кровообращения [36]. В экспериментальных моделях с СД на животных показано повышение ОБМ и снижение данного НСБ через 3 месяца после лечения [31]. Снижение уровни ОБМ у животных с СД могут быть связаны с потерей компенсаторных реакций в олигодендроцитах [28]. В данном исследовании была выявлена положительная корреляционная связь между ОБМ с уровнем HbA1c и гликемии натощак ($p<0,05$) у детей с СД 1 типа [9].

**Мозговой нейротрофический фактор (BNDF)**

BDNF относится к классу нейротрофинов, которые ответственны за повышение выживаемости нейронов и их устойчивости к повреждениям [32]. В ходе развития ЦНС, он участвует в дифференцировке, созревании нейронов и образовании синапсов. Во взрослом организме он выполняет функцию нейропротектора, защищая нервные клетки от ишемии, а также обеспечивает

нормальное функционирование нейронов и их взаимодействие друг с другом. Снижение концентрации BDNF в крови указывает на повреждение нервной ткани [35]. BDNF обнаруживаются не только в нервной ткани, но и в других органах и системах, например, получены данные о значимости этих факторов для развития β-клеток ПЖ [1]. В связи с этим, в дополнение к своему центральному влиянию на ткань головного мозга, BDNF играет роль в энергетическом гомеостазе у людей. Количество данных о роли BDNF в контроле метаболизма, особенно метаболизма глюкозы и резистентности к инсулину, продолжает увеличиваться [32]. Таким образом BDNF может служить маркером, указывающим на повреждение головного мозга при СД [35]. При исследовании когнитивной дисфункции у пациентов с СД 2 типа выявлена связь BNDF с уровнем HbA1c, что подтверждает влияние степени компенсации этого заболевания на развитие и прогрессирование когнитивной дисфункции [4]. Кроме того, при повышении уровня BNDF в плазме крови отмечено улучшение когнитивных показателей при СД [4].

## Заключение

Дисфункция ЦНС (в том числе и за счет нарушения работы головного мозга), является тяжелым долгосрочным нарушением при СД 1 и 2 типа, которая приводит к снижению качества жизни пациентов. Максимально раннее распознавание ДЭ на фоне данного заболевания является важным диагностическим шагом, который может минимизировать поражение головного мозга при СД. НСБ можно рассматривать как потенциально значимые маркеры ДЭ при СД 1 и 2 типа. Включение представителей НСБ, таких как: белок S100, ГФКБ, НСЭ, ОБМ и BDNF в диагностический арсенал при СД позволит своевременно диагностировать уровни повреждения головного мозга при СД, как в детском, так и во взрослом возрасте. Оценка выраженности ДЭ при помощи маркеров НСБ, может служить основанием для подключения дополнительной церебропротекторной терапии, с целью уменьшения дисфункции ЦНС на фоне течения СД.

## Литература (references)


1. Алиджанова Д.А., Маджидова Я.Н., Абдуллаева Н.Н. Вариабельность нейробиохимических маркеров при формировании неврологических нарушений у детей с сахарным диабетом // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2021. – № 3. – С. 61-65. [Alidzhanova D.A., Majidova Ya.N., Abdullayeva N.N. *Zhurnal teoreticheskoj i klinicheskoj meditsiny.* Journal of Theoretical and Clinical Medicine. – 2021. – N 3. – P. 61-65. (in Russian)]
2. Быков Ю.В. Оксидативный стресс и диабетическая энцефалопатия: патофизиологические механизмы. Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 6-2. – С. 39. [Bykov Yu.V. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* Modern problems of science and education. 2022. – N 6-2. – P. 39. (in Russian)]
3. Быков Ю.В., Углова Т.А. Аутоантитела к белку S-100B как предиктор тяжести течения сахарного диабета 1 типа у детей // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2022. – № 1. – С. 31-33. [Bykov Yu.V., Uglova T.A. *Meditsinskij Vestnik Severnogo Kavkaza.* Medical Bulletin of the North Caucasus. – 2022. – N1. – P. 31-33. (in Russian)]
4. Гацких И.В., Веселова О.Ф., Петрова М.М. Роль мозгового нейротрофического фактора (BNDF) в диагностике когнитивной дисфункции у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // В мире научных открытий. – 2016. – №1(73). – С. 10-23. [Gatskikh I.V., Veselova O.F., Petrova M.M. *V mire nauchnykh otkrytij.* In the world of scientific discoveries. – 2016. – N(73). – P. 10-23. (in Russian)]
5. Демяненко А.Н., Агеев А.В., Безрученкова А.В., Иголкина М.В. Впервые выявленный сахарный диабет 1 типа у детей и подростков в условиях неблагоприятной эпидемиологической ситуации, вызванной дельта-штаммом COVID-19 // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – №1. – С. 61-67. [Demyanenko A.N., Ageev A.V., Bezruchenkova A.V., Igolkina M.V. Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – N1. – P. 61-67. (in Russian)]
6. Кирьянова В.В., Ворохобина Н.В., Махрамов З.Х., Турсунов Р.А. Динамика качества жизни больных сахарным диабетом 2 типа при использовании биорезонансной терапии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2017. – №2. – С. 61-67. [6Kiryanova V.V., Vorokhobina N.V., Makhramov Z.H., Tursunov R.A. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2017. – N2. – P. 61-67. (in Russian)]
7. Маркелова Е.В., Зенина А.А., Кадыров Р.В. Нейропептиды как маркеры повреждения головного мозга. Современные проблемы науки и образования. – 2018. – №5. – С. 206. [Markelova E.V., Zenina A.A.,

Kadyrov R.V. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* Modern problems of science and education. – 2018. – N5. – P. 206. (in Russian)]

8. Новосёлова М.В., Самойлова Ю.Г., Жукова Н.Г., Латыпова А.В. Роль нейроспецифических белков в развитии когнитивных дисфункций у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – №2. – С. 21-30. [Novoselova M.V., Samoilova Yu.G., Zhukova N.G., Latypova A.V. *Byulleten' sibirskoj meditsiny.* Bulletin of Siberian Medicine. – 2014. – N2. – P. 21-30. (in Russian)]
9. Самойлова Ю.Г., Новоселова М.В., Жукова Н.Г., Тонких О.С. Анализ роли нейроспецифических белков в диагностике когнитивной дисфункции у пациентов с сахарным диабетом. Сахарный диабет. – 2014. – №2. – С. 83-90. [Samojlova Yu.G., Novoselova M.V., Zhukova N.G., Tonkikh O.S. *Sakharnyj diabet.* Diabetes mellitus. – 2014. – N2. – P. 83-90. (in Russian)]
10. Самойлова Ю.Г., Новоселова М.В., Костюнина А.К. и др. Предикторы развития энцефалопатии у пациентов с сахарным диабетом. Проблемы эндокринологии. – 2013. – №5. – С. 67-71. [Samojlova YU.G., Novoselova M.V., Kostyunina A.K. i dr. *Problemy ehndokrinologii.* Problems of endocrinology. – 2013. – N5. – P. 67-71. (in Russian)]
11. Самойлова Ю.Г., Семке В.Я., Белокрылова М.Ф. и др. Влияние психологических факторов на достижение компенсации сахарного диабета 1-го типа в детском и подростковом возрастах. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2010. – №1. – С. 35-40. [Samojlova YU.G., Semke VY.A., Belokrylova M.F. i dr. *Sibirskij vestnik psikhiatrii i narkologii.* Siberian Bulletin of Psychiatry and Narcology. – 2010. – N1. – P. 35-40. (in Russian)]
12. Скрипченко Н.В., Широкова А.С. Нейроспецифическая енолаза и белок S100 – биомаркеры повреждения головного мозга. Состояние вопроса и клиническое применение // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2016. – №4(50). – С. 16-25. [Skripchenko N.V., SHirokova A.S. *Nejrokhirurgiya i nevrologiya detskogo vozrasta.* Neurosurgery and neurology of childhood. – 2016. – N4(50). – P. 16-25. (in Russian)]
13. Урманова Ю.М., Холиков А.Ю. Урманова Ю.М., Холиков А.Ю. Изменения нервной системы у больных с сахарным диабетом 2 типа с нейропатией и прогностическая значимость нейромаркеров повреждений головного мозга. Обзор литературы. Евразийский союз ученых. Серия: медицинские, биологические и химические науки. – 2021. – № 8(89). – С. 3-8. [Urmanova YU.M., KHolikov A.YU. Urmanova YU.M., KHolikov A.YU. *Evrazijskij soyuz uchenykh. Seriya: meditsinskie, biologicheskie i khimicheskie nauki.* Eurasian Union of Scientists. Series: Medical, biological and chemical sciences. – 2021. – N 8(89). – P. 3-8. ( in Russian)]
14. Чехонин В.П., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б. Моно-клональные антитела к нейронспецифическим белкам. Москва. – 2007. – 341 с. [CHekhonin V.P., Gurina O.I., Dmitrieva T.B. *Mono-klonal'nye antitela k nejronspetsificheskim belkam.* Monoclonal antibodies to neurospecific proteins. Moscow. – 2007. – 341 p. ( in Russian)]
15. Ярец Ю.И., Малков А.Б. Нейроспецифические белки крови в диагностике доклинических форм диабетической дистальной полинеропатии // Проблемы здоровья и экологии. – 2018. – № 2 (56). – С. 60-66. [Yarets YU.I., Malkov A.B. *Problemy zdorov'ya i ehkologii.* Health and environmental issues. – 2018. – N2(56). – P. 60-66. (in Russian)]
16. Ayala-Guerrero L., García-delaTorre P., Sánchez-García S., Guzmán-Ramos K. Serum Levels of Glial Fibrillary Acidic Protein Association with Cognitive Impairment and Type 2 Diabetes // Archives of Medical Research. – 2022. – V.53, N5. – P. 501-507.
17. Baydas G., Nedzvetskii V.S., Tuzcu M et al. Increase of glial fibrillary acidic protein and S-100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E // European Journal Pharmacology. – 2003. – V. 462, N1-3. – P. 67-71.
18. Galiano M.R., Andrieux A., Deloulme J.C et al. Myelin basic protein functions as a microtubule stabilizing protein in differentiated oligodendrocytes // Journal of Neuroscience Research. – 2006. – V. 84, N3. – P. 534-41.
19. Goncalves C.A., Leite M.C., Nardin P. Biological and methodological features of the measurement of S100B, a putative marker of brain injury // Clinical Biochemistry. – 2008. – V.41. – P. 755–763.
20. Hafner A., Glavan G., Obermajer N. et al. Neuroprotective role of γ-enolase in microglia in a mouse model of Alzheimer's disease is regulated by cathepsin X // Aging Cell. – 2013. – V.12, N4. – P. 604–614.
21. Hamed S., Metwalley K.A., Farghaly H.S., Sherief T. Serum Levels of Neuron-Specific Enolase in Children With Diabetic Ketoacidosis // Journal Child Neurology. – 2017. – V. 32, N5. – P. 475-481.
22. Kasuga M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure // Journal of Clinical Investigation. – 2006. – V. 116. – P. 1756–1760.
23. Kawata K., Liu C.Y., Merkel S.F. et al. Blood biomarkers for brain injury: What are we measuring? // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. – 2016. – V.68. – P. 460-473.
24. Kaya C., Ataş A., Aksoy N. Evaluation of Pre-Treatment and Post-Treatment S100B, Oxidant and Antioxidant Capacity in Children with Diabetic Ketoacidosis // Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. – 2015. – V.7. – P. 109-113.
25. Li J., Zhang H., Xie M. et al. NSE, a Potential Biomarker, Is Closely Connected to Diabetic Peripheral Neuropathy // Diabetes Care. – 2013. – V.36, N11. – P. 3405-3410.

26. Lotosh H.G., Savel'eva E.K., Selishcheva A.A., Savel'ev S.V. Autoantibodies to neuron-specific proteins S100, GFAP, MBP and NGF in the serum of rats with streptozotocin-induced diabetes // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2013. – V. 155, N1. – P. 48-51.
27. McIntyre E.A., Abraha H.D., Perros P., Sherwood R.A. Serum S-100beta protein is a potential biochemical marker for cerebral oedema complicating severe diabetic ketoacidosis // Diabet Medicine. –2000. – V.17. – P. 807-809.
28. Nam S.M., Kwon H.J., Kim W. et al. Changes of myelin basic protein in the hippocampus of an animal model of type 2 diabetes // Laboratory Animal Research. – 2018. – V.34, N4. P. – 176-184.
29. Nett S.T., Noble J.A., Levin D.L. et al. Biomarkers and genetics of brain injury risk in diabetic ketoacidosis: a pilot study // Journal Pediatric Intensive Care. – 2014. – P.3.
30. Pang Z., Kushiyama A., Sun J. et al. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a novel biomarker for the prediction of autoimmune diabetes // FASEB Journal. – 2017. – V.31, N9. – P. 4053-4063.
31. Pesaresi M., Giatti S., Calabrese D et al. Dihydroprogesterone increases the gene expression of myelin basic protein in spinal cord of diabetic rats // Journal of Molecular Neuroscience. – 2010. – V.42, N2. – P. 135-139.
32. Rozanska O., Uruska A., Zozulinska-Ziolkiewicz D. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Diabetes // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V.21, N3. – P. 841.
33. Sandhu H.S., Butt A.N., Powrie J., Swaminathan R. Measurement of circulating neuron-specific enolase mRNA in diabetes mellitus // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2008. – V.1137. – P. 258-263.
34. Schroeter ML., Abdul-Khaliq H., Krebs M. et al. Serum markers support disease-specific glial pathology in major depression // Journal of Affective Disorders. – 2008. – V.111. – P. 271-280.
35. Stepanova T.V., Popyhova E.B., Ivanov A.N. Laboratory indicators of diabetic polyneuropathy // Medical Academic Journal. – 2019. – N9. – P. 112-114.
36. Wąsik N., Sokół B., Hołysz M et al. Serum myelin basic protein as a marker of brain injury in aneurysmal subarachnoid haemorrhage // Acta Neurochirurgica (Wien). – 2020. – V.162, N3. – P. 545-552.
37. Yu Z.W., Liu R., Li X. et al. High Serum Neuron-Specific Enolase Level Is Associated with Mild Cognitive Impairment in Patients with Diabetic Retinopathy // Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity. – 2020. – V.13. – P. 1359-1365.

**Информация об авторах**

*Быков Юрий Витальевич* – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анестезиологии, реаниматологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета. E-mail: yubykov@gmail.com

*Батурин Владимир Александрович* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета. E-mail: prof.baturin@gmail.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 577.122.2:616-092-08* 3.3.3 Патологическая физиология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.6 EDN: HPLNVO*

# ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА КЛЕТКИ. УЧАСТИЕ В ПРОТЕОСОМ ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**© Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Белоконь С.С., Кохан Н.В., Петухов З.А.**

*Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80*

*Резюме*

**Цель**. Описание морфофункциональных характеристик протеосом и их участия в патогенезе заболеваний.

**Методика**. Для выделения и очистки внутриклеточных протеасом существуют два основных подхода: биохимический и аффинный. В биохимическом методе используются различные техники, такие как ступенчатое высаливание, ультрацентрифугирование и хроматография. Второй метод, аффинный, основан на использовании специального пептида HTBH, который содержит гистидины, сайт для расщепления TEV-протеазой и биотин-подобную последовательность. Этот пептид образует прочную связь с авидином, что позволяет эффективно и быстро очищать протеасомы в течение нескольких часов.

**Результаты.** Протеасомы представляют собой мультисубъединичные протеазы, которые находятся в цитозоле. Их повсеместное присутствие и высокое содержание в компартментах отражает их центральную роль в обмене клеточных белков.

**Заключение**. Исследования протеасомы за последнюю четверть века дали глубокое понимание ее структуры и функций, что в значительной степени способствовало нашему пониманию жизни клетки. Однако многие вопросы еще предстоит выяснить.

*Ключевые слова:* протеасома, клетка, белок, апоптоз, протеасомная субъединица, белковый комплекс

# PROTEASOME SYSTEM OF THE CELL. PARTICIPATION IN PROTEASOME PATHOGENESIS OF DISEASES

Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M., Belokon S.S, Kokhan N.V., Petuhov Z.A.

*Grodno State Medical University, 80, Gorkogo St., 230009, GrodN, Republic of Belarus*

*Abstract*

**Objective**. Description of the morphofunctional characteristics of proteasomes and their participation in the pathogenesis of diseases.

**Methods**. There are two main approaches for the isolation and purification of intracellular proteasomes: biochemical and affinity. The biochemical method uses various techniques such as stepwise salting, ultracentrifugation, and chromatography. The second method, affinity-based, is based on the use of a special HTBH peptide that contains histidines, a site for cleavage by TEV protease and a biotin-like sequence. This peptide forms a strong bond with avidin, which allows efficient and rapid purification of proteasomes within a few hours.

**Results**. Proteasomes are multi-subunit proteases that reside in the cytosol. Their ubiquitous presence and high content in compartments reflects their central role in cellular protein metabolism.

**Conclusion**. Studies of the proteasome over the last quarter century have provided a profound insight into its structure and function, which has greatly contributed to our understanding of cellular life. However, many questions remain to be elucidated.

*Keywords:* proteasome, cell, protein, apoptosis, proteasome subunit, protein complex

## Введение

Протеасома – это крупная (2.5 МДа) мультисубъединичная протеиновая структура, обеспечивающая обусловленное убиквитином разрушение подлежащих гидролизу белков дефектной либо измененной структуры [1, 2]. Данный комплекс находится в цитоплазме клеток всех организмов, что свидетельствует об их абсолютной значимости [3]. Их масштабы схожи с масштабами рибосом, но их не всегда относят к органеллам.

Согласно современным представлениям, клеточные протеасомы вездесущи: они находятся как в нуклеарном пространстве, так и в цитозоле. Они связаны с мембранами, с их фосфолипидами, располагаясь перпендикулярно к гидрофильной стороне мембран, образованной полярными частями молекул липидов [4]. В ходе исследований была выявлена устойчивость к воздействию трипсина у части протеасом, что указывает на неполное проникновение протеасом внутрь мембраны [5].

Протеасомы найдены в разнообразных внеклеточных жидкостях: спинномозговой, альвеолярной и в плазме крови. Более того, протеасомы были определены в среде культивирования клеток. Обнаруженные в межклеточном пространстве протеасомы были названы внеклеточными, а обнаруженные в плазме крови получили название «циркулирующие протеасомы» (circulating proteasome), или ц-протеасомы (c-proteasome), иногда их называют п-протеасомами (p-proteasome; от: plasma proteasome) [1, 6]. Говоря в целом, протеасомы являются компонентом плазмы крови и обычно присутствуют у здоровых людей. Так, измеренная с помощью иммуноферментного анализа концентрация ц-протеасом у здоровых людей является по данным одних исследователей – 300 нг/мл, а по другим – 2350 нг/мл. Различие основывается на том, что первые авторы определяли концентрацию лишь 20S протеасом (коровая часть), в то время как другие исследователи измеряли общее наличие и структуру 20S и 26S протеасом. Такую разницу можно объяснить различными использованными методами иммуноферментного анализа [7, 8].

*26S протеасома* – зависящая от наработки энергии структура. Обеспечивает специфическую деградацию белков, которые конъюгированы с убиквитином. Изучение с помощью электронно-микроскопических методов позволило установить, что протеасома обладает гантелеобразной формой. Центральная часть представлена ферментным центром (или коровой частью). Данный комплекс с обеих сторон соединён с PA700 (Protein Activator) – комплексы, регулирующие активность протеасомы [9].

Основу протеасомы составляет коровая частица 20S, состоящая из 14 пар субъединиц с массой от 25 до 35 кДа. Все субъединицы объединяются в единую структуру. Её масса – 750 кДа. 20S-составляющая является фигурой вращения (цилиндр) протяжённостью 16 нм и радиусом 6 нм. 20S-составляющая протеасом включает в себя 7 пар α-составляющих и 7 β-составляющих. Изучение структуры с помощью рентгеновского излучения 20S протеасомы подтвердило организацию протеасомных субъединиц в $(\alpha)_7(\beta)_7(\beta)_7(\alpha)_7$-комплекс. Две пары округлых образований формируют три впячивания структуры радиусом около 2,5 нм [10].

Центральное пространство – протеолитическое – сформировано двумя b-кольцами, обращенными «голова к голове», и изолировано от двух внешних полостей, сформированных другими сторонами b-колец и a-кольцами, воротами толщиной 3 нм. Объем внешнего пространства 20S-составляющей «Термоплазмы Ацидофильной» около 60 нм3, объем пространства, расположенного внутри ферментного комплекса, около 84 нм3, и её размеры сопоставимы с глобулярным ~70-кДа белком. Находятся во внутренней полости цилиндра на N-концах β-составляющей протеолитически активные сайты, а вход белка, подлежащего гидролизу, в полость ферментного комплекса ограничивают «ворота» с двух сторон 20S-протеасомы, образованные N-концами a-субъединиц (рис. 1) [11,12].

Все субъединицы протеасом имеют одинаковую пространственную структуру, основанную на повышенной схожести аминокислот α и β составляющих. Ориентированная в трехмерном пространстве упаковка составляющих являет собой пару непараллельных из 5 тяжей β-пластины, которые находятся между парами извитых (криволинейных) α-составляющих и тремя такими же с противоположной стороны. Отличительной чертой между β и α составляющими протеасом является наличие у последних добавочной нелинейной структуры [13]. Данная структура представляет собой комплекс плотно прилегающих друг к другу колец. Наружные кольца образованы α-составляющими, а внутренние – β. Треонин, являющийся компонентом

β-составляющих протеасом, способствует разрушению связей внутри белковых молекул, которые подлежат гидролизу (рис. 1) [1, 3].

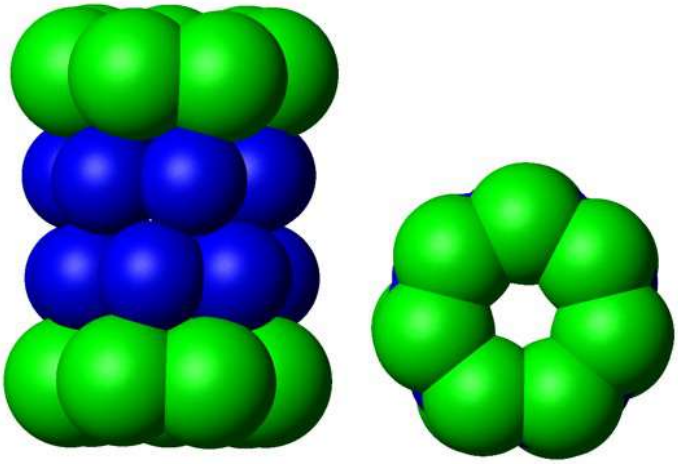


Рис. 1. Схематическое изображение протеасомы 26S пекарских дрожжей [1]

Протеасому относят к классу N-концевых нуклеофильных гидролаз (NTN hydrolase). К ингибированию эффективности гидролиза приводит замена N-концевого треонина β-субъединиц на серин. В составе протеасомы 14 протеазных центров. Три из семи β-субъединиц имеют треонин-протеазные ферментные центры разной субстратной специфичности, то есть каждая протеасома имеет 6 протеазных центров. Каспазоподобную активность имеет субъединица $\beta_1$, субъединица $\beta_2$ – трипсиноподобную активность, а $\beta_5$ – химотрипсиноподобную активность [1, 7, 13]. Образованные β-субъединицами протеиназные центры обращены во внутреннюю протеолитическую полость. Через пору, образованную α-субъединицами, субстрат может получить к ним доступ.

Формы существования протеасом могут быть различны. Это обусловлено их модификациями после трансляции. Функции протеасом могут различаться даже от минимального изменения заряда их составляющих. Это явление обусловлено физическими свойствами (гидрофобными, электрическими и др.) биологических молекул [1, 3]. Существует ряд модификаций белковых молекул протеасом после окончания процесса трансляции таких как сумоилирование, Nα-миристилирование, $N^{\alpha}$-метилирование, сукцинилирование и другие. Протеасомы 26S пекарских дрожжей на данный момент являются максимально исследованным типом модификации молекул протеасом в связи с удобством проведения лабораторных экспериментов (изучение свойств, получение мутаций) на данном субстрате [14, 15].

Обнаружение убиквитинированных белков и подготовка их к деградации в каталитической протеасоме 20S происходит благодаря регуляторным комплексам протеасом. Данная подготовка состоит из выбора и соединения с объектом, высвобождения убиквитина, разворачивания и транспортировки объекта в ту часть протеасомы, где будет производится гидролиз (20S составляющей). Размеры белковых молекул, являющихся продуктами протеолиза, определяются функционированием каналов протеасом. Высвобождение пептидных остатков белковых молекул, как правило, происходит медленно. Это важно для дальнейшего результативного протеолиза, который будут осуществлять ферменты цитоплазмы [7, 8].

Протеасома 26S отвечает за разрушение пептидных молекул клеток. В ней разрушается до 90% клеточных белков. 20S составляющая, являющаяся коровой частью, – изолированный компартмент. Коровая часть состоит из ферментативных центров, осуществляющих протеолиз. В коровую часть протеасомы, обычно закрытую, могут проникнуть лишь те пептидные молекулы, которые соединены с четырьмя молекулами убиквитина. Входя в канал протеасомы, молекула белка теряет третичную и вторичную структуры, разрушаясь с образованием коротких пептидов, покидающих канал с другой стороны. Молекула убиквитина не попадает в канал протеасомы, а после разрушения белка прикрепляется к следующей белковой молекуле, подлежащей гидролизу – так называемое разрушение белка, обусловленное соединением с убиквитином [1, 5]. До 2004 г. считалось, что все ненужные клеточные белки гидролизуются протеазами лизосом.

Цель исследования – описание морфофункциональных характеристик протеосом и их участия в патогенезе заболеваний.

## Методика

Для выделения и очистки внутриклеточных протеасом существуют два основных подхода: биохимический и аффинный. В биохимическом методе используются техника, такая как ступенчатое высаливание, ультрацентрифугирование и хроматография. Второй метод, аффинный, основан на использовании специального пептида HTBH, который содержит гистидины(H) , сайт для расщепления TEV-протеазой (T) и биотин-подобную последовательность(B). Этот пептид образует прочную связь с авидином, что позволяет эффективно и быстро очищать протеасомы в течение нескольких часов [2, 16]. Существует также метод гель-фильтрации для извлечения 26S-составляющей, но он не исключает возможности наличия 20S-составляющей. Ультрацентрифугирование тоже применяется, но оно не подходит для аналитических исследований, поскольку не разделяет 26S и 20S-составляющие друг от друга [1, 7, 8].

Функции протеасом. Время жизни белковых молекул в клетке в основном определяется протеасомами. Гидролизу в протеасомах подвергается пептидные молекулы с ненормальной структурой, антигены и т.д. Протеасомы играют важную роль в регуляции активности иммунной системы, а также во всех процессах жизнедеятельности клеток тканей всего организма (митоз, опухолевый рост и запрограммированная клеточная гибель) [17]. То есть протеолиз внутри клетки является не механическим процессом деградации пептидов, а частью основных факторов, регулирующих жизнедеятельность клеток.

Белки циклины регулируют последовательную смену фаз клеточного цикла. Все фазы клеточного цикла имеют собственный регулятор. Это то, что обеспечивают протеасомы 26S. Одни циклины, как известно, в качестве метки для узнавания содержат области, концентрированные глутаминовой кислотой, серином, пролином и трионином, а ряд других – консервативный фрагмент из девяти аминокислот, который обычно располагается на расстоянии 40 аминокислотных остатков от N-конца. Регуляторный пептид, идентифицируемый какой-либо меткой, своим фрагментом связан с цепью убиквитина и расщепляется протеасомой 26S. Понятно, что сбой в его работе приведет к остановке клеточного цикла на той или иной фазе [16]. В раковых клетках также обнаруживают протеасомы. Они могут служить медицине в качестве противоопухолевых средств из-за их способности приводить к апоптозу злокачественные клетки [18].

Существуют различные точки зрения о внеклеточных протеасомах. Например, некоторые ученые считают, что накопление протеасом во внеклеточном пространстве связано прежде всего с необходимостью «расчистки территории» – избавлением от концентрирующихся во внеклеточном пространстве пептидов и активацией секретируемых клеткой белков-предшественников, а также процессингом антигенов. Другие исследователи считают, что нахождение протеасом во внеклеточном пространстве является причиной нарушений в клетках и выступает в качестве диагностического маркера заболеваний. Третьи рассматривают внеклеточные протеасомы как возможный прогностический параметр в исходе заболеваний [1, 13].

Модификации молекулы протеасомы, возникающие после завершения процесса трансляции, являются важным фактором, определяющим ферментную активность, способность связываться с определенным субстратом, расположение протеасомы в цитоплазме клетки и сохранение оптимальной структуры молекулы. Детальное изучение молекул протеасом на настоящий момент не завершено и является полем деятельности для дальнейших исследований [1, 8].

## Результаты исследования и их обсуждение

Участие в развитии нейродегенеративных заболеваний и главной отличительной особенностью этих заболеваний является дисфункция и отмирание клеток головного и спинного мозга, а также образование в цитоплазме больших агрегатов, которые образованы белками с аномальной структурой [19]. Во многих случаях в составе агрегатов обнаруживается убиквитин и протеасомы. Функциональные взаимоотношения протеасом и убиквитина в настоящее время являются объектом пристального изучения в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Опасность для жизнедеятельности клетки протеасомных включений также открытый вопрос. Было высказано предположение, что причиной образования этих телец при нейродегенеративных заболеваниях являются нарушения в функционировании убиквитин-протеасомной системы [1]. Несколькими группами исследователей было установлено, что ингибиторы протеасом вызывают формирование телец включения и гибель нейронов путем запрограммированной клеточной смерти в нейрональных клеточных культурах. Кроме того, оказалось, что в нейронах при заболевании Паркинсона снижена ферментативная активность протеасом. Однако в настоящее время изучены

белковые агрегаты, которые приводят к изменению функциональной работы протеасом. Так удалось установить связь между развитием болезни и дисфункцией убиквитин-протеасомной системы только для некоторых типов наследственных болезней (Паркинсона и Альцгеймера) [1, 14, 19].

Участие протеасом в канцерогенезе. Установлено, что при развитии карциномы Krebs наблюдается значительное снижение протеасом 26S по сравнению с нормальными тканями [20]. Увеличение содержания убиквитированных форм пептида Bax было заметно при раке предстательной железы с высокой экспрессией антиапоптотического пептида Bcl-2. Это приводит к снижению его содержания в клетке, угнетению апоптоза злокачественных клеток и увеличению риска летального исхода по шкале Глисона. Угнетение убиквитин-протеасомного пути расщепления белков ингибитором PSI способствует индукции апоптоза в клетках человеческой мезотелиомы [19].

В условиях *in vitro* было обнаружено, что уровень убиквитированных пептидов увеличивается в клетках почечноклеточной карциномы. К появлению почечной карциномы приводят мутации гена VHL при синдроме фон Хиппель-Линдау. Один из элементов Е3-лигазы убиквитиновой системы кодируется геном VHL. Семейство транскриптомных факторов HIF деградирует посредством Е3 убиквитиновой лигазы. Данные факторы при недостатке кислорода в тканях существенно увеличивают наработку факторов, способствующих росту сосудов, например, фактор роста эндотелия сосудов. Увеличение экспрессии ангиогенных факторов и прогрессирование рака почки связаны с нарушением убиквитин-протеасомного разрушения белков семейства HIF при мутациях Е3-лигазы. При раке молочной железы достаточно часто выявляются нарушения гена кодирующих Е3 лигазы [1, 11, 13, 19]. Кроме того, протеасомы играют значительную роль в развитии вирусных и аутоиммунных заболеваний.

Ингибиторы убиквитин-протеасомной системы как потенциальные лекарства. Нарушение работы некоторых компонентов системы убиквитин-протеасома, скорее всего, является причиной разнообразных заболеваний. С этим связана актуальность поиска специфических ингибиторов этой системы. Однако убиквитин-протеасомный комплекс является жизненно необходимым компонентом нормальной клетки. Наименее специфичными супрессорами активности убиквитин-протеасомной системы являются супрессоры ферментативной активности 20S протеасом и Е1. Большинство используемых супрессоров активности 20S протеасом направлено на подавление их химотрипсинподобной активности. По химической структуре большинство супрессоров активности – это короткие пептиды, взаимодействующие с каталитическими остатками в активном центре. Боронаты пептидов являются высокоспецифичными супрессорами активности протеасомы 20S [21].

Супрессоры активности протеасом 20S оказывают неблагоприятный эффект на клетки вплоть до разрушения путем запрограммированной клеточной гибели. При долговременном влиянии супрессоров активности 20S протеасом они оказываются для клеток токсичными и приводят к их гибели в результате апоптоза. Однако более чувствительны к данным веществам пролиферирующие клетки. Обращая внимание на этот факт, а также на антиангиогенное действие ингибиторов, можно заметить, что в борьбе с раком эти вещества должны быть эффективны. Один из протеасомных супрессоров – бортезомиб (bortezomib, PS-341, пиразинилкарбонил Phe-Leu-боронат, Velcade) – на данный момент нашел своё применение [1, 22]. Бортезомиб – сильный супрессор химотрипсинподобной и частично трипсиноподобной активности протеасомы. После изучения противоопухолевой активности бортезомиба *in vitro* и *in vivo* начались его испытания в клинике. Стало известно, что бортезомиб в общем не проявляет эффекта как монопрепарат в лечении солидных опухолей, но в случае множественной миеломы и других гематологических заболеваний показывает хорошие результаты [23].

В настоящее время ведется поиск новых супрессоров протеасом, которые, скорее всего, обгонят по своей эффективности бортезомиб и его производные. Высокоспецифичный супрессор – салиноспорамид А (NPI-0052) – совсем недавно был получен из морских бактерий. Отличительная особенность данного супрессора от бортезомиба заключается в безвозвратном связывании со всеми ферментными центрами протеасомы. NPI-0052 ингибирует протеасому и NF-κB, чем бортезомиб, при использовании их в равных концентрациях, что было доказано в исследованиях *in vitro*. В то время как в ходе клинических исследований у пациентов с хроническим лимфолейкозом NPI-0052 оказывает более мощный апоптогенный эффект изолированных клеток лимфойдного ряда. К тому же, NPI-0052 вызывает апоптоз клеток множественной миеломы, устойчивых к бортезомибу и другим лекарствам [1, 24].

Более эффективным методом по сравнению с подавлением активности 20S протеасомы является поиск и применение ингибиторов Е3-лигаз и взаимодействий белок-субстрат-Е3. Можно выделить несколько подходов. Первый подход – в качестве супрессоров Е3 используются пептиды,

аналогичные части белка-субстрата, с которой связывается Е3-лигаза. Было показано, что фосфопептид, отвечающий

N-концевой области IκB, защищает целый пептид от деградации протеасомами, а микроинъекции данного фосфопептида сдерживают активацию в них NF-κB в клетках. Второй подход –вести поиск малых молекул, которые будут специфично угнетать активные центры Е3 или сайты их связывания с субстратом [1, 25]. Выбор и подходящая модификация данных соединений во многом облегчается, когда известны структуры установочных комплексов субстрат-Е3. На примере поиска ингибиторов взаимодействия p53-Mdm2 можно рассмотреть результаты применения такого подхода. Обследование большой библиотеки малых молекул выявило семейство HLI-98, члены которого угнетали аутоубиквитинирование Mdm2 *in vitro*. Несмотря на то что эти молекулы ингибировали и другие

Е3-лигазы, а при больших концентрациях даже Е2, они были способны вызывать апоптоз трансформированных клеток, практически не оказывая отравляющего действия на нормальные клетки. Данное исследование продемонстрировало, что ингибирование Е3, в частности Mdm2, можно рассматривать как альтернативный подход в лечении рака. В настоящее время известно еще несколько специфических низкомолекулярных супрессоров взаимодействия p53-Mdm2 [1, 21, 24].

Нутлины (Nutlins) были открыты первыми. Они являются производными цис-имидазолина и способны вытеснять p53 из комплекса с Mdm2. Связываются нутлины с гидрофобной полостью Mdm2, к которой в обычное время присоединены латеральные ответвления трех аминокислот p53, и не дают связываться с Mdm2. К накоплению в клетках p53 и продуктов генов, которые он активирует (например, p21 и p27), приводит обработка нутлинами. Эффект нутлина-3 – апоптоз раковых клеток с p53 дикого типа, а у нормальных клеток – замедление роста при сохранении жизнеспособности. Как позже выяснилось, нутлины угнетают помимо p53-Mdm2 и иные белок-белковые взаимодействия. В частности, пептид HIF1α связывается с тем же участком Mdm2, что и p53, поэтому нутлин-3 разрушает и это взаимодействие. Нутлины могут иметь терапевтический эффект на раковые клетки с мутантным p53: возрастает чувствительность ко многим лекарствам в таких клетках. Целью ряда исследований, проводимых в настоящее время, является изучение влияния супрессоров активности p53-Mdm2 (RITA, MI-63). Установлено, что их эффекты схожи с воздействием нутлинов. Далее перечислены некоторые механизмы пептидых лигаз. При вирусе папилломы человека белки-аптамеры взаимодействуют с вирусными пептидами, вызывая апоптотическую элиминацию HPV16-положительных опухолевых структур, не оказывая действия на здоровые клеточные структуры [1, 25].

К настоящему времени супрессоры лигазы SCFSkp2, CpdA (Compound A) были обнаружены и детально изучены, они предотвращают включение Skp2 в состав фермента. CpdA вызывает остановку клеточного цикла и SCFSkp2- и p27-зависимую клеточную смерть, действуя преимущественно на раковые клетки [1, 23, 24].

## Заключение

Протеасомы и убиквитин-протеасомная система играют важную роль в регуляции клеточных процессов и патологических состояниях. В раке, ингибиторы убиквитин-протеасомной системы могут быть использованы для борьбы с опухолями, особенно с гематологическими заболеваниями. Эти ингибиторы могут воздействовать на клетки, увеличивая их чувствительность к апоптозу.

В нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезни Паркинсона и Альцгеймера, дисфункция убиквитин-протеасомной системы может сопровождаться образованием агрегатов из аномальных белков и снижением ферментативной активности протеасом. Удалось установить связь между развитием болезни и дисфункцией убиквитин-протеасомной системы только для некоторых типов наследственных болезней.

В общем, применение веществ, изменяющих активность убиквитин-протеасомной системы, в терапевтических целях является очень перспективным. В первую очередь их используют в борьбе с злокачественными опухолями, однако, учитывая то, что нарушения в слаженной работе убиквитин-протеасомной системы имеют место и при других заболеваниях, можно предположить, что вскоре область применения супрессоров этой системы в медицине будет расширена.

## Литература (references)


1. Сорокин А.В., Ким Е.Р. Овчинников Л.П. Протеасомная система деградации и процессинга белков // Успехи биологической химии. – 2009. – Т.49. – С. 3-76. [Sorokin A.V., Kim E.R. Ovchinnikov L.P. *Uspekhi biologicheskoi khimii*. Advances in biological chemistry. – 2009. – T.49. – P. 3-76. (in Russian)]
2. Bard J., Goodall E., Greene E., Jonsson E., Dong K., Martin A. Structure and Function of the 26S Proteasome. Annual Review of Biochemistry. – 2018. – V.87. – P. 697-724.
3. Dahlmann B. Mammalian proteasome subtypes: Their diversity in structure and function. Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2016. – V.597. – P. 132-140.
4. Budenholzer L., Cheng C., Li Y., Hochstrasser M. Proteasome Structure and Assembly. Journal of Molecular Biology. – 2017. – V. 429. – N.22. – P. 3500-3524.
5. Jung T., Grune T. Structure of the proteasome. Progress in Molecular Biology and Translational Science. – V.109. – P. 1-39.
6. Gu Z.C., Enenkel C. Proteasome assembly. Cellular and Molecular Life Sciences. – 2014. – V.71. – N.24. – P. 4729-4745.
7. Mao Y. Structure, Dynamics and Function of the 26S Proteasome. Subcell Biochemistry. – 2021. – V.96. – P. 1-151.
8. Sakata E., Eisele M., Baumeister W. Molecular and cellular dynamics of the 26S proteasome. Biochim Biophys Acta Proteins and Proteomics. – 2021. – V.1869. – N.3. – P. 140583.
9. McCann T., Tansey W. Functions of the proteasome on chromatin. Biomolecules. – 2014. – V.4. – N.4. – P. 1026-1044.
10. Shin J., Muniyappan S., Tran N., Park H., Lee S., Lee B. Deubiquitination Reactions on the Proteasome for Proteasome Versatility. International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V.21. – N.15. – P. 5312.
11. Sahara K., Kogleck L., Yashiroda H., Murata S. The mechanism for molecular assembly of the proteasome. Advances in biological regulation. – 2014. – V.54. – P. 51-58. https://doi.org/10.1016/j.jbior.2013.09.010
12. Stadtmueller B., Hill C. Proteasome activators. Molecular Cell. – 2011. – V.41., N.1. – P. 8-19.
13. Sahu I., Glickman M. Proteasome in action: substrate degradation by the 26S proteasome. Biochemical Society Transactions. –2021. – V.49., N.2. – P. 629-644.
14. Saeki Y., Tanaka K. Assembly and function of the proteasome. Methods in Molecular Biology. – V.832. – P. 315-337.
15. Yedidi R., Fatehi A., Enenkel C. Proteasome dynamics between proliferation and quiescence stages of Saccharomyces cerevisiae. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. – 2016. – V.51., N.6. – P. 497-512.
16. Maresh M., Salazar-Chaparro A., Trader D. Methods for the discovery of small molecules to monitor and perturb the activity of the human proteasome. Future Medicinal Chemistry. – 2021. – V.13., N.2. – P. 99-116.
17. Rousseau A., Bertolotti A. Regulation of proteasome assembly and activity in health and disease. Nat Rev Mol Cell Biology. – 2018. – V.19., N.11. – P. 697-712. https://doi.org/10.1038/s41580-018-0040-z
18. Enenkel C. Proteasome dynamics. Biochimica et Biophysica Acta. – 2014. – V.1843., N.1. – P. 39-46.
19. Catalgol B., Grune T. Proteasome and neurodegeneratıve diseases. Progress in Molecular Biology and Translational Science. – 2012. – V.109. – P. 397-414.
20. Türker F., Cook E, Margolis S. The proteasome and its role in the nervous system. Cell Chemical Biology. – 2021. – V. 28., N.7. – P. 903-917.
21. Grice G., Nathan J. The recognition of ubiquitinated proteins by the proteasome. Cellular and Molecular Life Sciences. – 2016. – V.73., N.18. – P. 3497-3506.
22. Fricker L. Proteasome Inhibitor Drugs. Annual review of pharmacology and toxicology. – 2020. – P. 1-5.
23. Yerlikaya A., Kanbur E. The Ubiquitin-Proteasome Pathway and Resistance Mechanisms Developed Against the Proteasomal Inhibitors in Cancer Cells. Current Drug Targets. – 2020. – V.21., N.13. – P. 1313-1325.
24. Osmulski P., Karpowicz P., Jankowska E., Bohmann J., Pickering A., Gaczyńska M. New Peptide-Based Pharmacophore Activates 20S Proteasome. Molecules. – 2020. – V.25., N.6. – P. 1439.
25. Gaczynska M., Osmulski P. Harnessing proteasome dynamics and allostery in drug design. Antioxidants & Redox Signaling. – 2014. – V.21., N.17. – P. 2286-2301.
26. Inada T. The proteasome's balancing act. Nature Plants. – 2019. – V.5., N.12. – P. 1203-1204.

**Информация об авторах**

*Бонь Елизавета Игоревна* – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии имени Д.А.Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет». E-mail: asphodela@list.ru

*Максимович Наталия Евгеньевна* – доктор медицинских наук, зав. кафедры патологической физиологии имени Д.А. Маслаков УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь. E-mail: mne@grsmu.by

*Зиматкин Сергей Михайлович* – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Гродненский государственный медицинский университет». E-mail: smzimatkin@mail.ru

*Кохан Никита Витальевич* – студент УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь. E-mail: nikita.kokhan1@gmail.com

*Белоконь Сергей Сергеевич* – студент УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь. E-mail: dreamseregamacho@gmail.com

*Петухов Захар Александрович* – студент УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь. E-mail: zakhar20011@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.126-002-08* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.7 EDN: HZIPTV*

# ПРИНЦИПЫ ВЫБОРА АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ЭНДОКАРДИТЕ В УСЛОВИЯХ ОТСУТСТВИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

**© Данилов А.И.[1], Сливкин М.Д.[1], Фоминых С.Г.[2], Трубина Л.В.[2]**

[1]*Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

[2]*Омский государственный медицинский университет, Россия, 644099, Омск, ул. Ленина, 12*

*Резюме*

**Цель.** Осветить вопросы выбора антимикробной терапии инфекционного эндокардита в условиях отсутствия выделения этиологически значимых возбудителей.

**Методика.** На основании утвержденных рекомендаций представлены наиболее значимые критерии выбора антимикробной терапии культурально-негативного инфекционного эндокардита.

**Результаты.** Сложившаяся практика в отечественном здравоохранении в ходе назначения антимикробной терапии не всегда соответствует современным рекомендациям. Практические врачи зачастую пренебрегают правилами проведения бактериологического исследования, в частности необходимости взятия биологического материала до назначения антимикробной терапии. В связи с этим, проблема выделения этиологически значимых возбудителей и корректного выбора антимикробной терапии при инфекционном эндокардите в Российской Федерации крайне актуальна.

**Заключение.** На сегодняшний день в Российской Федерации, данных, отражающих реальную практику введения пациентов с культурально-негативным инфекционным эндокардитом, крайне недостаточно. В связи с этим, крайне важно проведение многоцентровых исследований и последующее внедрение их результатов в клиническую практику.

*Ключевые слова:* культурально-негативный инфекционный эндокардит, бактериологическое исследование крови, факторы риска, антимикробная терапия, клиническая практика

# PRINCIPLES OF CHOOSING ANTIMICROBIAL THERAPY FOR INFECTIVE ENDOCARDITIS IN THE ABSENCE OF ETIOLOGICALLY SIGNIFICANT PATHOGENS

Danilov A.I.[1], Slivkin M.D.[1], Fomin S.G.[2], Trubinal L.V.[2]

[1]*Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

[2]*Omsk State Medical University, 12, Lenina St., 644019, Omsk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To highlight the issues of choosing antimicrobial therapy for infectious endocarditis in the absence of etiologically significant pathogens.

**Methods.** Based on the approved recommendations, the most significant criteria for choosing antimicrobial therapy for culture-negative infectious endocarditis are presented.

**Results.** The established practice in domestic healthcare during the appointment of antimicrobial therapy does not always correspond to modern recommendations. Practitioners often neglect the rules for conducting bacteriological research, in particular the need to take biological material before prescribing antimicrobial therapy. In this regard, the problem of identifying etiologically significant pathogens and the correct choice of antimicrobial therapy for infectious endocarditis in the Russian Federation is extremely relevant.

**Conclusions.** To date, in the Russian Federation, there is extremely insufficient data reflecting the actual practice of managing patients with culture-negative infectious endocarditis. In this regard, it is extremely important to conduct multicenter studies and the subsequent implementation of their results into clinical practice.

*Keywords:* culture-negative infective endocarditis, bacteriological examination of blood, risk factors, antimicrobial therapy, clinical practice

## Введение

Согласно современным публикациям, инфекционный эндокардит представляет собой существенную проблему во многих странах мира. При этом, несмотря на применение современных методов диагностики и разработанные схемы рациональной антимикробной терапии (АМТ), летальность при данной патологии остается высокой [1, 4].

В соответствии с существующими рекомендациями, с целью достижения максимального эффекта, АМТ при инфекционном эндокардите должна носить этиотропную направленность. Вместе с тем, согласно многоцентрому исследованию МАЭСТРО, выделение этиологически значимых возбудителей при данной патологии в Российской Федерации составляет 35,5%, что подчеркивает актуальность культурально-негативного инфекционного эндокардита (КНИЭ) в современной клинической практике [1, 3].

Потенциальные трудности в достижении положительной динамики при инфекционном эндокардите во многом обусловлены развитием жизне-угрожающих осложнений, среди которых наиболее часто отмечаются развитие и прогрессирование сердечной недостаточности, тромбоэмболические проявления, а также поражение внутренних органов различной локализации [6].

### Диагностика культурально-негативного инфекционного эндокардита

Бактериологическое исследование крови (БИК) наряду с визуализирующими методами исследования играет ключевую роль в диагностике и в целом в ведении пациентов с инфекционным эндокардитом [5, 11].

Согласно правилам проведения БИК, следует проводить взятие образцов (включая, один аэробный и один анаэробный), каждый из которых содержит не менее 10 мл крови, полученной из периферической вены с тщательным соблюдением стерильности. Рекомендуется взятие не менее 3 образцов крови объемом 10 мл с интервалом 30 минут. Принципиально важным, но не всегда соблюдаемым правилом является необходимость взятия образцов крови до назначения АМТ. Кроме того, наиболее правильным является взятие образцов крови в момент повышения температуры, когда количество микробных клеток в крови максимально [8].

Среди недавно появившихся методов идентификации микроорганизмов представляет интерес идентификация бактерий по пептидному спектру на основе матриксной лазерной десорбционной ионизационной масс-спектрометрии. Эта технология позволяет выявлять возбудителя не только из колоний, выращенных на плотных питательных средах, но и путем прямой идентификации бактериальных колоний из первичной культуры крови [3, 8].

Наиболее важное значение среди молекулярно-генетических методов диагностики инфекционного эндокардита играет полимеразная цепная реакция, позволяющая быстро обнаружить трудно-идентифицируемые возбудители. Вместе с тем, существует ряд вопросов, ограничивающих проведение данного исследования при диагностике описываемой патологии. Прежде всего, это высокие риски контаминации при использовании в ходе полимеразной цепной реакции универсальных праймеров, а также потенциальное присутствие дезоксирибонуклеиновой кислоты микроорганизмов в организме пациента в течение нескольких месяцев после исчезновения клинической картины инфекционного эндокардита [8].

Дополнительной возможностью в диагностике инфекционного эндокардита является проведение иммунохимических методов (иммуноферментный анализ) с целью определения антител прежде всего к таким микроорганизмам, как Coxiella burnetii, Bartonella spp., Brucella spp. [8].

В случае отсутствия положительных результатов вышеописанных методов диагностики, выставляется диагноз КНИЭ, что обуславливает дополнительные сложности при выборе и оценки эффективности АМТ.

### Антимикробная терапия культурально-негативного инфекционного эндокардита

Одним из основных принципов назначения АМТ пациентов с инфекционным эндокардитом, включая КНИЭ, является как можно более раннее и длительное назначение антимикробных

препаратов. При этом гораздо более предпочтительным считается применение препаратов с бактерицидной активностью [7].

Согласно разработанным рекомендациям назначение комбинированной терапии способствует профилактике рецидивов КНИЭ и снижению длительности его терапии [8, 11].

Наиболее частыми комбинациями антимикробных препаратов при терапии пациентов с данной патологией являются сочетания β-лактамных антибиотиков и гликопептидов с аминогликозидами. В условиях того, что эти пациенты имеют потенциально полиорганную недостаточность, в том числе почечную, данные схемы вызывают опасения, связанные с риском развития нефропатии, что обуславливает необходимость проведения динамического контроля за состоянием функции почек [8, 12].

В условиях крайне низкого количества выделения этиологически значимых возбудителей при инфекционном эндокардите в Российской Федерации, особое значение приобретает определение структуры факторов риска, косвенно свидетельствующих о потенциальных возбудителях.

Так, согласно исследованию МАЭСТРО, наиболее частыми факторами риска инфекционного эндокардита в Российской Федерации являются инъекционная наркомания, приобретенные пороки сердца и ранее перенесенный инфекционный эндокардит (рис.), обуславливающие ведущее значение в настоящее время *S. aureus* в этиологической структуре инфекционного эндокардита [2].

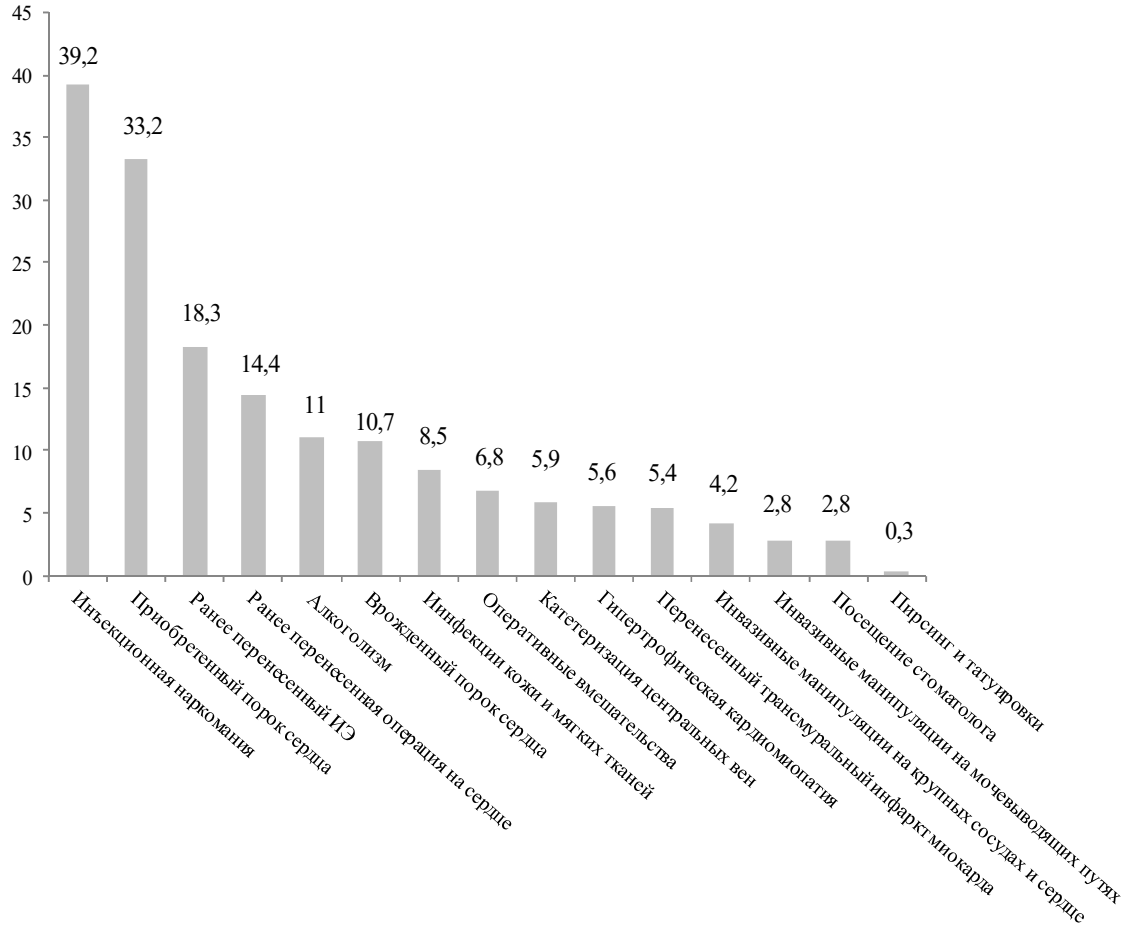



Рис. Структура факторов риска инфекционного эндокардита в Российской Федерации, %

В связи с повышением роли *S. aureus* в этиологической структуре инфекционного эндокардита и увеличением частоты бактериемии, вызванной MRSA, проведено большое количество исследований, затрагивающих вопрос сравнения одной из стандартных схем (ванкомицин +

гентамицин) и даптомицина. Согласно большинству из них, даптомицин не уступает по эффективности стандартной схеме и его назначение при бактериемии, вызванной MRSA, является вполне оправданным. К его дополнительным преимуществам относятся отсутствие потенциальной нефротоксичности, а также гораздо меньший уровень резистентности *S. aureus* по сравнению с ванкомицином [1, 3].

Парентеральный путь введения антимикробных препаратов при терапии инфекционного эндокардита более предпочтительный. Однако, в ряде случаев, например, у лиц, длительно имеющих в анамнезе инъекционную наркоманию, этот путь введения может быть затруднен из-за генерализованного поражения сосудистого русла [9].

## Заключение

Значимость проблемы инфекционного эндокардита подтверждается отсутствием тенденции к снижению заболеваемости и летальности при данной патологии.

Современная диагностика инфекционного эндокардита основывается на предложенных в 1994 г. и впоследствии дополненных Duke-критериях, согласно которым ключевая роль в установлении диагноза инфекционного эндокардита отводится визуализирующим и микробиологическим методам. Вместе с тем, частота выделения этиологически значимых возбудителей при инфекционном эндокардите в Российской Федерации существенно ниже по сравнению со странами Европы и США, что обуславливает необходимость детализации структуры факторов риска.

Подчеркнем, что улучшение введения пациентов с инфекционным эндокардитом невозможно без знания особенностей диагностики и терапии, четких представлений об этиологической структуре, учета глобальных и локальных данных об антимикробной резистентности наиболее часто встречающихся возбудителей. В этой связи чрезвычайно важной представляется совместная работа микробиологических лабораторий с целью получения достоверных данных о возбудителях и их чувствительности к антимикробным препаратам и врачей, занимающихся лечением пациентов с инфекционным эндокардитом.

## Литература (references)


1. Данилов А.И., Козлов Р.С., Козлов С.Н., Дехнич А.В. Практика ведения пациентов с инфекционным эндокардитом в Российской Федерации // Антибиотики и химиотерапия. – 2017. – Т.62, №1-2. – С. 7-11. [Danilov A.I., Kozlov R.S., Kozlov S.N., Deknich A.V. *Antibiotiki i himioterapiya*. Antibiotics and chemotherapy. – 2017. – V.62, N1-2. – P. 7-11. (in Russion)]
2. Данилов А.И., Козлов Р.С., Лямец Л.Л. Структура факторов риска инфекционного эндокардита в Российской Федерации // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – Т.17, №4. – С. 113-117. [Danilov A.I., Kozlov R.S., Lymets L.L. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical academy. – 2018. – V.17, N4. – P. 113-117. (in Russian)]
3. Данилов А.И., Сливкин М.Д., Фоминых С.Г., Шукиль Л.В. Обзор Российских рекомендаций по ведению пациентов с инфекционным эндокардитом // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.21, №4. – С. 153-157. [Danilov A.I., Slivkin M.D., Fomin S.G., Shukil L.V. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical academy. – 2022. – V.21, N4. – P. 153-157. (in Russian)]
4. Dayer M.J., Jones S., Prenderqast B. et. al. Incidence of infective endocarditis in England, 2000-13: a secular trend, interrupted time-series analysis // Lancet. – 2015. – V.385. – P. 1219-1228.
5. Durack D., Lukes D.K., Briqht D.K. et. al. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service // American Journal of Medicine. – 1994. – V.96, N3. – P. 200-209.
6. Chambers J., Sandoe J., Ray S., Prendergast B. et. al. The infective endocarditis team: recommendations from an international working group // Heart. – 2014. – V.100. – P. 524-527.
7. Erwin J.P., Otto C.M. Infective endocarditis: old problem, new guidelines and still much to learn // Heart. – 2014. – V.100, N13. – P. 996-998.
8. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J. et. al. 2015 ESC Guidelines for the management of infecive endocarditis: The Task Force for the Management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC)

endorsed by: European Association for C1ardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM) // European Heart Journal. – 2015. – V.36(44). – P. 3075-3128.
9. Iversen K., Host N., Bruun N.E. et. al. Partial oral treatment of endocarditis // American Heart Journal. – 2013. – V.165, N2. – P. 116-122.
10. Kirk F., Vaselli N.M. Blood culture-negative infective endocarditis: are we looking hard enough? // Infection. – 2023. – V.51(6). – P. 1629-1631.
11. Li J., Sexton D.J., Mick N. et. al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis // Clinical Infectious Disease. – 2000. – V.30, N4. – P. 633-638.
12. Thuny F., Grisoli D., Collart F. et. al. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives // Lancet. – 2012. – V.379. – P. 965-975.

**Информация об авторах**

*Данилов Андрей Игоревич* – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: dr.DanAndr@yandex.ru

*Сливкин Максим Дмитриевич* – врач-клинический фармаколог ОГБУЗ «Смоленский областной онкологический клинический диспансер». E-mail: maksonlongboy1994@gmail.com

*Фоминных Стелла Геннадьевна* – доктор медицинских наук, профессор кафедры, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: stella_fominyh@mail.ru

*Трубина Лариса Владимировна* – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: stella_fominyh@mail.ru

Поступила 16.11.2023

Принята к печати 17.11.2023

*УДК 615.036* 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.8 EDN: JMYAPZ*

# ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19: АКТУАЛЬНЫЕ КОНЦЕПЦИИ И ПРОТИВОРЕЧИЯ

**© Петров В.И.[1], Шаталова О.В.[1], Стецкий Н.П.[1], Клыкова М.С.[1], Комиссарова И.А.[2]**

[1]*Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1*

[2]*Поликлиника №2, Россия, 400007, Волгоград, ул. Металлургов, 8*

*Резюме*

**Цель.** Проанализировать эффективность и безопасность пероральных антикоагулянтов в различных дозах у пациентов с COVID-19 после стационарного лечения на основании данных крупных рандомизированных исследований.

**Методика.** Произведен обзор завершенных, рандомизированных, контролируемых исследований на тему терапии пероральными антикоагулянтами у пациентов с COVID-19, выписанных из стационара. Были использованы такие ресурсы, как PubMed, Cochrane Library, Embase, ClinicalTrials и UpToDate. Поиск проводился по ключевым словам: COVID-19 и коагулопатия; COVID-19 и ривароксабан, COVID-19 и тромбоз, COVID-19 и антикоагулянты.

**Результаты.** Завершенные рандомизированные, контролируемые исследования на тему терапии пероральными антикоагулянтами у пациентов с COVID-19 демонстрируют, что продленная профилактика прямыми пероральными антикоагулянтами после госпитализации пациентов с COVID-19 может снизить риски венозных тромбоэмболических осложнений и улучшить течение болезни, в первую очередь, у пациентов с 2-3 баллами и более по шкале IMPROVE VTE и повышенным уровнем D-димера. В тоже время, в амбулаторной практике замечена тенденция к избыточному назначению антикоагулянтов, особенно при легком течении COVID-19.

**Заключение.** На основании анализа завершенных крупных рандомизированных, контролируемых исследований по вопросу продленной профилактики венозных тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19 можно сделать вывод, что применение прямых пероральных антикоагулянтов способствует снижению риска возникновения тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19, выписанных из стационара, улучшает клинические исходы и прогноз для жизни. В тоже время, применение ривароксабана в дозе 20 мг в сутки увеличивало риск возникновения клинически значимых кровотечений, при этом не улучшая прогноз, а применение антикоагулянтов при легком течении COVID-19 у пациентов, получающих лечение амбулаторно было, вероятно, нецелесообразным.

*Ключевые слова*: COVID-19 и коагулопатия; COVID-19 и ривароксабан; COVID-19 и антикоагулянты; COVID-19 и тромбоэмболия; COVID-19 и смертность

# USE OF ORAL ANTICOAGULANTS IN PATIENTS WITH COVID-19: CURRENT SEARCHES AND CONTRADICTIONS

Petrov V.I., Shatalova O.V.[1], Stetsckiy N.P.[1], Klikova M.S.[1], Komissarova I.A.[2]

[1]*Volgograd State Medical University, 1, Pavshih Borzov Sq., 400131, Volgograd, Russia*

[2]*Polyclinic N2, 8, Metallurgov Ave., 400007, Volgograd, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To analyse the efficacy and safety (based on data from large randomized trials) of oral anticoagulants at different doses in patients with COVID-19 after hospital treatment.

**Methods.** Completed RCTs on the topic of therapy with oral anticoagulants in COVID-19 patients after hospital treatment were reviewed. Such resources like PubMed, Cochrane Library, Embase, Clinical Trials and UpToDate were used. The search was performed by keywords: COVID-19 and coagulopathy; COVID-19 and rivaroxaban, COVID-19 and thrombosis, COVID-19 and anticoagulants.

**Results.** The results of completed RCTs on oral anticoagulant therapy in patients with COVID-19 demonstrate that prolonged prophylaxis with oral anticoagulants after hospital treatment can reduce the risks of VTE and improve the course of the disease (primarily in patients with ≥2-3 points on the IMPROVE VTE scale and elevated D-dimer level). At the same time, in dispensary practice, there is a tendency to over-prescribe anticoagulants, especially with a mild course of COVID-19.

**Conclusion.** Based on the analysis of large completed RCTs on the topic of prolonged prevention of VTE in patients with COVID-19, it can be concluded that using of oral anticoagulants reduces the risk of thromboembolic complications in patients with COVID-19 after hospital treatment, improves clinical outcomes and prognosis for life. At the same time, the use of rivaroxaban at a dose of 20 mg per day increased the risk of clinically significant bleeding, while not improving the prognosis, and the use of anticoagulants for mild COVID-19 in patients receiving outpatient treatment was probably inappropriate.

*Keywords*: COVID-19 and coagulopathy; COVID-19 and rivaroxaban; COVID-19 and anticoagulants; COVID-19 and thromboembolism; COVID-19 and mortality

## Введение

Тромбоэмболические события, возникающие на фоне COVID-19, продолжают оставаться актуальной проблемой на сегодняшний день. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на 20.02.2023 г. было зарегистрировано более 750 млн. подтвержденных случаев заболевания COVID-19, в том числе более 6 млн. летальных исходов [24]. Оказывая значительное влияние на систему гемостаза, коронавирусная инфекция COVID-19 вызывает нарушения параметров коагуляции, приводя к возникновению артериальных и венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО), особенно у пациентов с коморбидной патологией [2, 9, 14, 25]. Заметно повышенный уровень D-димера также свидетельствует о повышенном риске микротромбоза, связанного с высокой смертностью при COVID-19 [4, 5]. Наиболее тяжелыми тромбоэмболическими осложнениями, требующими к себе особого внимания, являются ишемический инсульт, инфаркт миокарда и тромбоэмболия легочной артерии. При этом частота распространения ВТЭО зависит от тяжести течения COVID-19 (табл. 1). Так, тромботические события могут достигать 31% у пациентов с COVID-19 в тяжелом состоянии. [6], [7, 8]. Однако, по данным нескольких исследований, основанных на анализе регистров пациентов с COVID-19, у 70-80% пациентов наблюдались легкая или бессимптомная формы, и они лечились амбулаторно [16, 17]. На сегодняшний день недостаточно данных о риске тромбоэмболии у таких пациентов. Некоторые авторы сообщают о частоте ВТЭО в диапазоне от 0% до 1% у амбулаторных пациентов с COVID-19 [18, 19, 20].

Таблица 1. Частота регистрации тромботических осложнений у пациентов с COVID-19 [3, 21, 23]

| Лечение | Госпитализированные пациенты | Пациенты, находящиеся в ОРИТ | Амбулаторные пациенты | Пациенты, выписанные из стационара |
|---|---|---|---|---|
| НМГ/НФГ в профилактических дозах | 14,15% | 27,9% | Н/Д | Н/Д |
| НМГ/НФГ в лечебных дозах | 9,7% | 23,6% | Н/Д | Н/Д |
| ПОАК | Н/Д | Н/Д | 1,2% | 3,14% |

Примечание: *Н/Д – нет данных или недостаточно данных, НМГ – низкомолекулярный гепарин, НФГ – нефракционированный гепарин, ПОАК – прямые пероральные антикоагулянты

В настоящее время нет единого мнения о целесообразности продленной профилактики тромбоза после выписки из стационара. Согласно актуальной на сегодняшний день версии временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19 продленная профилактика ВТЭО может быть использована при наличии одного из следующих факторов риска: возраст старше 60 лет, госпитализация в ОРИТ, активное злокачественное новообразование, тромбоэмболия легочной артерии в анамнезе, концентрация D-димера в крови, в 2 раза превышающая верхнюю границу нормы [1].

Коагулопатия при COVID-19 требуют поиска оптимальной антикоагулянтной терапии и более детального, глубокого изучения проблемы. Наиболее информативными и масштабными

исследованиями в области применения ПОАК при COVID-19 – ассоциированной коагулопатии являются крупные рандомизированные контролируемые испытания – MICHELLE и ACTION [10, 13].

Цель исследования – проанализировать эффективность и безопасность пероральных антикоагулянтов в различных дозах у пациентов с COVID-19 после стационарного лечения на основании данных крупных рандомизированных исследований.

## Результаты исследования и их обсуждение

Одним из первых крупномасштабных рандомизированных исследований, в котором была затронута проблема назначения продленной антикоагулянтной терапии, является исследование MICHELLE [10]. В исследовании принимали участие пациенты, которые были выписаны из стационара, где проходили лечение по COVID-19.

В исследовании принимало участие 318 пациентов [10]. Критериями включения являлись: пациенты, выписанные из стационара, где проходили лечение по COVID-19 не менее 3 дней; подтвержденным ПЦР-тестом на SARS-CoV2, антиген-тестом либо IgM; повышенный риск ВТЭО, возраст 18 лет и старше. В условиях стационара пациенты получали профилактические дозы нефракционированного гепарина (5000 МЕ 2-3 раза в сутки), эноксапарина (40 мг подкожно 2 раза в сутки) либо фондапаринукса (2,5 мг 1 раз в сутки).

Риск ВТЭО (табл.2) рассчитывался с помощью шкалы IMPROVE VTE (International Medical Prevention Registry on Venous Thromboembolism) (2-3 балла) и уровнем D-димера более 500 нг/мл или 4 балла по шкале IMPROVE VTE (не зависимо от уровня D-димера) [10].

Таблица 2. Оценка риска развития венозных тромбоэмболических осложнений – шкала IMPROVE VTE [15]

| Факторы риска | Баллы |
|---|---|
| Венозные тромбоэмболические осложнения в анамнезе | 3 |
| Известная тромбофилия (дефицит протеина С или S, фактор V Лейден, волчаночный антикоагулянт) | 2 |
| Парез или паралич нижних конечностей | 2 |
| Злокачественное новообразование (кроме не меланомы кожи) в любое время последние 5 лет | 2 |
| Пребывание в отделении (блоке) интенсивной терапии | 1 |
| Полная иммобилизация ≥7 дней (нахождение в кровати или на стуле с выходом в туалет или без него) | 1 |
| Возраст >60 лет | 1 |

Примечание: низкий риск – 0-1 балл, умеренный риск – 2-3 балла, высокий риск – 4 и более баллов

Через 24 ч. после завершения стационарного лечения пациенты были рандомизированы в две группы: первая группа получала ривароксабан 10 мг в сутки на протяжении 35 дней (n=159 [50%]), вторая группа не получала антикоагулянты (n=159 [50%]). Было организовано два контрольных визита пациентов: на 7 день после рандомизации (мог быть использован телефонный опрос) и на 35 день. На втором визите выполняли КТ-ангиографию легких и двухстороннюю ультразвуковую доплерографию вен нижних конечностей.

Первичными конечным точками эффективности являлись симптоматические или фатальные тромбоэмболии, бессимптомные тромбоэмболии [11], выявленные с помощью УЗИ и КТ-ангиографии, и симптоматической артериальные тромбоэмболии (инфаркт миокарда, ишемический инсульт). Также, использовались вторичные точки эффективности: комбинация смертность от всех причин, включая смерть от сердечно-сосудистых событий. Безопасность оценивалась возникновением больших и клинически значимых небольших кровотечений, в соответствии с критериями международного общества тромбоза и гемостаза (ISTH) [11].

У 3,14% пациентов, получавших ривароксабан, и у 9,43% пациентов из контрольной группы были зафиксированы ВТЭО (ОР 0.33, 95% ДИ 0,13–0,90; p=0,0293), что отражает снижение относительного риска на 67%. Вторичными исходами эффективности являлись симптоматическая и фатальная венозная тромбоэмболия, которая возникла у 0,63% пациентов, получавших ривароксабан по сравнению с 5,03% пациентов контрольной группы (ОР 0,13, 95% ДИ 0,02-0,99, p=0,0487); симптоматическая венозная тромбоэмболия и смертность от всех причин наблюдалась

у 2,52% пациентов в группе ривароксабана и у 5,66% пациентов контрольной группы (ОР 0,44, 95% ДИ 0, 14-1,41;p=0,1696); сочетание симптоматической венозной тромбоэмболии, инфаркта миокарда, инсульта или сердечно-сосудистой смерти произошло у 0,63% пациентов в группе ривароксабана и у 5,66% пациентов в контрольной группе (ОР 0,11, 95% ДИ 0,01-0,87, p=0,0360).

В обеих группах не было зафиксировано клинически значимых кровотечений, определяемых по шкале ISTH. Наблюдались малые, не имеющие клинической значимости кровотечения, что соответствовало профилю безопасности, наблюдаемому в исследовании MARINER [12] (рис. 1), которое служило основой для данного исследования.

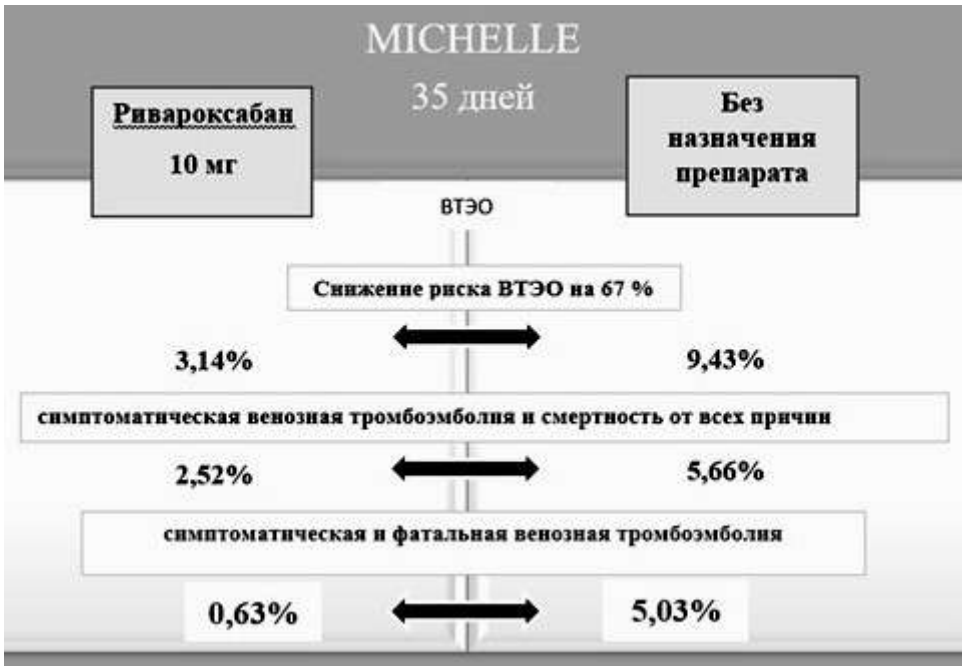



Рис. 1. Результаты исследования MICHELLE [10]

Таким образом, данные, полученные в исследовании MICHELLE, свидетельствуют о том, что продленная антикоагулянтная терапия после госпитализации по случаю COVID-19 улучшает клинические исходы, снижая риск возникновения ВТЭО, по сравнению с ее отсутствием.

Провести сравнение эффективности и безопасности применения ПОАК и парентеральных антикоагулянтов при COVID-19 позволило исследование ACTION [13].

ACTION – открытое, многоцентровое, рандомизированное, контролируемое исследование. В данном исследовании проводилась оценка эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии ривароксабаном и парентеральными антикоагулянтами в течение 30 дней с начала госпитализации.

В исследовании приняли участие 614 госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 (также подтвержденной тестом ПЦР, антиген-тестом либо IgM), которые были рандомизированы в две группы: в первой группе (50%) пациенты получали антикоагулянтную терапию в течение 30 дней ривароксабаном в дозе 20 мг в сутки либо эноксапарином 1 мг/кг два раза в сутки (у нестабильных пациентов)), с последующим переходом на ривароксабан. Пациенты второй группы (50%) получали профилактические дозы нефракционированного гепарина (5000 МЕ 2-3 раза в сутки) или эноксапарина (40 мг подкожно 2 раза в сутки), до достижения АЧТВ в 1,5-2,5 раза выше среднего нормального значения. Пациентам, с клиренсом креатинина 30-49 мл/мин или тем, кто принимал азитромицин, получали уменьшенную дозу ривароксабана 15 мг один раз в сутки.

Основными критериями включения были повышенная концентрация D-димера > 500 нг/мл и сохраняющиеся симптомы COVID-19 в течении 14 дней до рандомизации и возраст, 18 лет и старше.

В терапевтической группе 9% пациентов первоначально получали эноксапарин, а <1% получали нефракционированный гепарин; из этих 9% пациентов семеро были в стабильном состоянии при

рандомизации, но стали нестабильны до приема первой дозы ривароксабана. Остальные 90% пациентов в терапевтической группе получали ривароксабана, из которых 76% получали 20 мг один раз в день, а 24% – 15 мг один раз в день. Из группы профилактической антикоагулянтной терапии 84% пациентов начали лечение эноксапарином и 16% – нефракционированным гепарином. Один пациент был выписан в день поступления. 13% пациентам была назначена расширенная профилактика после выписки из стационара (тем, кто имел повышенный риск ВТЭО).

Первичными конечными точками эффективности являлись анализ смертности, продолжительности пребывания в стационаре или продолжительность оксигенотерапии в течение 30 дней, а также два вторичных комбинированных исхода: ВТЭО, в том числе инфаркт миокарда, инсульт и смертность от всех причин. Безопасность оценивалась возникновением больших и клинически значимых небольших кровотечений, в соответствии с критериями ISTH.

Частота тромботических событий на 30-й день существенно не отличалась между группами, также как и сочетание венозной тромбоэмболии, инфаркта миокарда, инсульта, системной эмболии или серьезных неблагоприятных событий со стороны конечностей (ОР 0·). 75 [95% ДИ 0,45–1,26], p=0,32).

Первичный результат безопасности большого или клинически значимого небольшого кровотечения, определяемого ISTH, наблюдался у 8% пациентов, получавших терапевтическую антикоагулянтную терапию, и у 2% пациентов, получавших профилактическую антикоагулянтную терапию (ОР 3,64 [95% ДИ 1,61–8,27], p=0·0010.

Одно фатальное внутричерепное кровотечение произошло у клинически нестабильного пациента в терапевтической группе во время приема эноксапарина. Различные по степени тяжести кровотечения возникли у 12% пациентов, получавших терапевтическую антикоагулянтную терапию, и у 3%, получавших профилактическую антикоагулянтную терапию (ОР 3,92 [95% ДИ 1,92–8,00], p <0,0001).

В результате, исследование ACTION (рис. 2) демонстрирует нам, что антикоагулянтная терапия ривароксабаном или эноксапарином с последующим назначением ривароксабана в дозе 20мг до 30-го дня у пациентов, госпитализированных с COVID-19 и повышенной концентрацией D-димера, не улучшала клинические исходы, при этом увеличивала риск возникновения кровотечений, по сравнению с профилактической антикоагулянтной терапией.

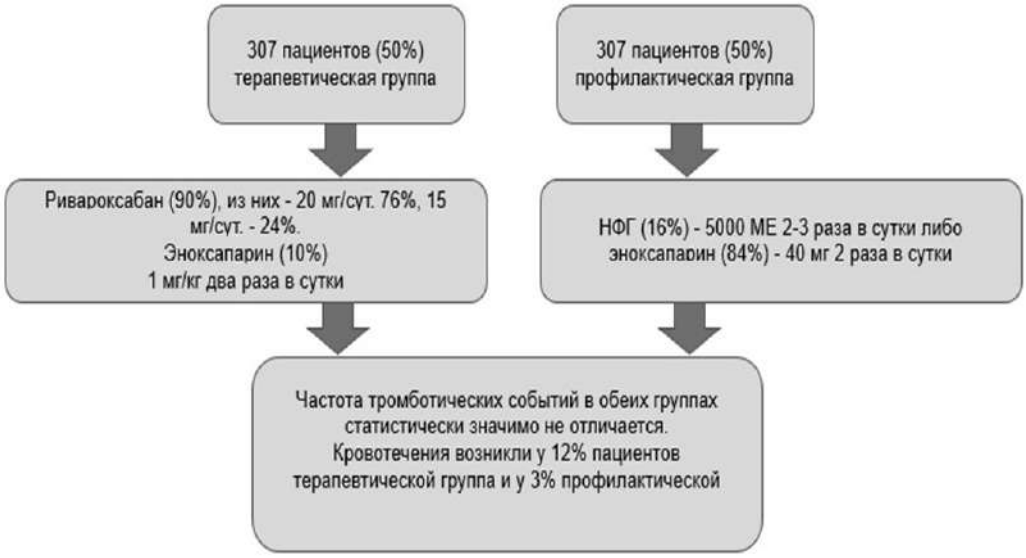



Рис. 2. Результаты исследования ACTION [13]

Не менее интересным исследованием, открывающим иной взгляд на проблему COVID-19 – ассоциированной коагулопатии является ретроспективное, обсервационное исследование, проведенное в Тунисе, результаты которого опубликованы в августе 2022 г. [21]. Целью исследования были оценка частоты ВТЭО, а также исходы антикоагулянтной терапии и геморрагических осложнений. В исследовании приняли участие 2089 пациентов с COVID-19, которые проходили лечение амбулаторно. Критериями включения были: возраст 18 лет и старше,

положительный тест на SARS-CoV2 (ПЦР либо экспресс-тест) и амбулаторное лечение. Не были включены в исследование пациенты, которые имели показания к госпитализации, но отказались от нее и те, кто принимает ПОАК на постоянной основе по сопутствующей патологии. Конечными точками эффективности являлись симптоматические венозные тромбоэмболии, инфаркт миокарда, ишемический инсульт и острой ишемии конечностей. Безопасность оценивалась по возникновению больших и малых кровотечений, в соответствии с рекомендациями Международного общества тромбоза и гемостаза [22]. Перед началом исследования были зарегистрированы демографические данные пациентов и исходные клинические характеристики, включая возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), сердечно-сосудистые заболевания и факторы риска, клиническая картина COVID-19, D-димер, препараты для лечения COVID-19, сопутствующие лекарственные препараты, антикоагулянты.

Клиническая картина COVID-19 была среднетяжелой у 254 пациентов (12,2%), легкой у 1623 пациентов (77,7%) и бессимптомной у 212 пациентов (10,1%). В качестве антикоагулянтов использовались ривароксабан в дозе 10 мг в сутки и эноксапарин в профилактической (4000 ЕД 1 раз в сутки), промежуточной (4000 ЕД 2 раза в сутки) и лечебной (1 мг/кг два раза в день) дозах. Антикоагулянты были назначены 472 пациентам (22,5%): 78 пациентов (3,7%) получали только ривароксабан 10 мг в сутки, 380 пациентов (18,1%) получали только эноксапарин в профилактической дозе, а 14 пациентов сначала получали эноксапарин, а затем перешли на ривароксабан (0,6%). 256 пациентов получали профилактическую дозу эноксапарина, 21 пациент получал терапевтическую дозу и 103 получили промежуточную дозу. Оценка риска ВТЭО оценивалась по шкале IMPROVE. Согласно оценке IMPROVE, только 6% пациентов были отнесены к группе высокого риска осложнений ТЭЛА. Чрезмерное назначение тромбопрофилактики было отмечено у 19,5% пациентов, а недостаточное – у 1,6% пациентов.

Венозные и артериальные ВТЭО произошли в 1% случаев (n = 20), а 30-дневная смертность от всех причин произошла в 0,9% (19 случаев). Наблюдались несмертельные осложнения ВТЭО у 14 пациентов, фатальные осложнения ВТЭО у 6 пациентов и смерть без признаков осложнений ВТЭО у 13 пациентов. В общей сложности 30-дневная смерть наступила у 20 пациентов (1,6%).

Частота венозных и артериальных осложнений ТЭЛА была значительно выше у пациентов старше 70 лет (3,5% против 0,8%), у пациентов с заболеваниями сердца (5,1% против 0,8%), особенно у тех, кто страдает ишемической болезнью сердца, у пациентов с признаками COVID-19 на компьютерной томографии (5,1%против 0,6%) и в случае среднетяжелой клинической формы по сравнению с другими клиническими проявлениями (3,9% против 0,5%). Только у 23,9% когорты был выявлен по крайней мере один фактор высокого риска ВТЭО. В соответствии с бельгийскими рекомендациями, было отмечено чрезмерное назначение антикоагулянтов у 13,5% пациентов и недостаточное назначение у 7,9% пациентов.

Таким образом, частота тромбоэмболических осложнений у амбулаторных пациентов с COVID-19 довольно низкая. Данное обсервационное исследование показало, что в клинической практике существует чрезмерное назначение антикоагулянтов [21].

В настоящее время идет активное изучение проблемы антитромботической терапии у амбулаторных пациентов с COVID-19. Учитывая удобство применения, режим дозирования и доступность, прямые пероральные антикоагулянты остаются перспективным объектом исследования и кандидатами на препараты первой линии для лечения коагулопатии COVID-19 в амбулаторной практике. С высокой долей вероятности можно утверждать, что продленная профилактика ПОАК после госпитализации пациентов с COVID-19 может снизить риски ВТЭО и улучшить течение болезни, в первую очередь у пациентов, с 2-3 баллами и более по шкале IMPROVE VTE и повышенным уровнем D-димера. В тоже время, в амбулаторной практике существует тенденция к избыточному назначению антикоагулянтов, особенно при легком течении COVID-19, тем более учитывая относительно низкую вероятность ВТЭО у пациентов с COVID-19, находящихся на амбулаторном лечении.

## Заключение

По результатам завершенных на данный момент исследований можно сделать вывод, что применение ПОАК способствует снижению риска возникновения тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19, выписанных из стационара, улучшает клинические исходы и прогноз для жизни. В тоже время, применение ривароксабана в дозе 20 мг в сутки увеличивало риск возникновения клинически значимых кровотечений, при этом, не улучшая прогноз, а применение антикоагулянтов при легком течении COVID-19 у пациентов получающих лечение

амбулаторно было, вероятно, нецелесообразным. Необходимо проведение более крупных исследований в области применения антикоагулянтов у амбулаторных пациентов с COVID-19.

## Литература (references)


1. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 17, 2022. – С. 10-24. *Vremennye metodicheskie rekomendacii. Profilaktika, diagnostika i lechenie novoj koronavirusnoj infekcii (COVID-19), versija 17.* Temporary methodological recommendations. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19), version 17, 2022. – P. 10-24.
2. Дмитриев И.В., Игнатова Н.Б., Абросимов С.Ю. и др. Влияние коморбидной патологии на летальный исход при коронавирусной инфекции // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – №3. – С. 26-32. [Dmitriev I.V., Ignatova N.B., Abrosimov S.Yu. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – N3. – P. 26-32. (in Russian)]
3. Лобастов К.В., Счастливцев И.В., Порембская О.Я. и др. COVID-19-ассоциированная коагулопатия: обзор современных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике // Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. – 2020. – №3. – С. 36-51. [Lobastov K. V., Schastlivtsev I.V., Porembskaya O.Ya. i dr. *Statsionarozameshchayushchie tekhnologii: Ambulatornaya khirurgiya*. Ambulatory surgery. – 2020. – N3. – P. 36-51. (in Russian)]
4. Рачеева Ю.В., Авчинникова Д.А., Быкова А.В. и др. Динамика состояния и лабораторный профиль пациентов с коронавирусной инфекцией, осложненной пневмонией // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2021. – №1. – С. 58-64. [Racheeva Yu.V., Avchinnikova D.A., Bykova A.V. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2021. – N1. – P. 58-64. (in Russian)]
5. Helms J., Tacquard C., Severac F., Leonard-Lorant I. et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study // Intensive Care Medicine. – 2020. – V.46. – P. 1089-1098.
6. Klok F.A., Kruip M.J.H.A., van der Meer N.J.M. et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19 // Thrombosis Research. – 2020. – V.191. – P. 145-147.
7. Klok F.A., Kruip M.J.H.A., van der Meer N.J.M. et al.. (2020a) Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis // Thrombosis Research. – 2020. – V.191. – P. 148-150.
8. Quintanilla-Sánchez C., Salcido-Montenegro A., González-González J.G., Rodríguez-Gutiérrez R. Acute cerebrovascular events in severe and nonsevere COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis // Nature Reviews Neurosciences. – 2022. – V. 33(6). – P. 631-639.
9. Xu J.-F., Wang L., Zhao L., Li F., Liu J., Zhang L. et al. Risk assessment of venous thromboembolism and bleeding in COVID-19 patients // Respiratory Research. – 2020. – V.13. – P. 2119-2126.
10. Ramacciotti E., Barile Agati L., Calderaro D., Aguiar V.C.R. et al. Rivaroxaban versus no anticoagulation for post-discharge thromboprophylaxis after hospitalisation for COVID-19 (MICHELLE): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial // Lancet. – 2022. – V.399(10319). – P. 50-59.
11. Kaatz S., Ahmad D., Spyropoulos A.C., Schulman S. Definition of clinically relevant non-major bleeding in studies of anticoagulants in atrial fibrillation and venous thromboembolic disease in non-surgical patients: communication from the SSC of the ISTH // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2015. – V.13. – P. 2119-2126.
12. Spyropoulos A.C., Ageno W., Albers G.W., Elliott C.G. et al. Post-Discharge Prophylaxis With Rivaroxaban Reduces Fatal and Major Thromboembolic Events in Medically Ill Patients // Journal of the American College of Cardiology. – 2020. – V.75(25). – P. 3140-3147.
13. Lopes R.D., de Barros e Silva P.G.M., Furtado R.H.M. et al. Randomized clinical trial to evaluate a routine full anticoagulation strategy in patients with coronavirus infection (SARS-CoV-2) admitted to hospital: rationale and design of the ACTION (AntiCoagulaTlon cOroNavirus)–Coalition IV trial // American Heart Journal. – 2021. (published online April 20.)
14. Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation // Blood. – 2020. – V.135(23). – P. 2033-2040.
15. Spyropoulos A.C., Anderson F.A. Jr., FitzGerald G., Decousus H. et al. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE // Chest. – 2011. – V.140(3). – P. 706-714.
16. Krittanawong C., Virk H.U.H., Narasimhan B. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and cardiovascular risk: A meta-analysis // Progress in Cardiovascular Diseases. – 2020. – V.63. – P. 527-528.

17. Giannis D., Allen S., Tsang .J et al. Post-Discharge Thromboembolic Outcomes and Mortality of Hospitalized COVID-19 Patients: The CORE-19 Registry // Blood. – 2021.
18. Piazza G., Campia U., Hurwitz S. et al. Registry of Arterial and Venous Thromboembolic Complications in Patients With COVID-19 // Journal of the American College of Cardiology. – 2020. – V.76. – P. 2060-2072.
19. Aktaa S., Wu J., Nadarajah R. et al. Incidence and mortality due to thromboembolic events during the COVID-19 pandemic: Multi-sourced population-based health records cohort study // Thrombosis Research. – 2021. – V.202. – P. 17-23.
20. Bikdeli B., Madhavan M.V., Jimenez D. et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review // Journal of the American College of Cardiology. – 2020. – V.75. – P. 2950-2973. doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.031
21. Hammami R., Jdidi J., Chakroun O., Issaoui F. et al. Thromboembolic events in COVID-19 ambulatory patients: An observational study about incidence, and thromboprophylaxis outcomes // PLoS One. – 2022. – V.17(8). – P. e0270195
22. Gerotziafas G.T., Catalano M., Colgan M.P. et al. Guidance for the Management of Patients with Vascular Disease or Cardiovascular Risk Factors and COVID-19: Position Paper from VAS-European Independent Foundation in Angiology/Vascular Medicine // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – V.120. – P. 1597-1628.
23. Reis S., Popp M., Schießer S., Metzendorf M.I. et al. Anticoagulation in COVID-19 patients - An updated systematic review and meta-analysis // Thrombosis Research. – 2022. – V.219. – P. 40-48.
24. World Health Orginization. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. 2022 [cited 2022 01.20]. Available at: https:// covid19.who.int/.
25. Cao W., Li T. COVID-19: towards understanding of pathogenesis // Cell Research. – 2020. – V.30(5). – P. 367-369.

**Информация об авторах**

*Петров Владимир Иванович* – заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: clinpharmvolg21@gmail.com

*Шаталова Ольга Викторовна* – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: shov_med@mail.ru

*Стецкий Николай Петрович* – аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий амбулаторно-поликлиническим отделением №1 ГУЗ «Поликлиника №2». E-mail: epifen1996@gmail.com

*Клыкова Мария Сергеевна* – ассистент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: marusya8906@mail.ru

*Комиссарова Ирина Анатольевна* – заведующий терапевтическим отделением №5, врач-инфекционист ГУЗ «Поликлиника № 2», г. Волгоград. E-mail: iasa123i@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

## КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*УДК 616.329-002-07* 3.1.18 Внутренние болезни

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.9 EDN: KNKLHM*

# ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНАЯ РЕФЛЮКСНАЯ БОЛЕЗНЬ И ХРОНИЧЕСКИЕ БРОНХОЛЕГОЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ. НЕОБХОДИМОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ 24-ЧАСОВОЙ pH-ИМПЕДАНСОМЕТРИИ

**© Горбачева Е.М., Ильюшина И.В., Слончакова Д.М., Шадрина Н.Е., Дехнич Н.Н., Пунин А.А.**

*Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Обобщить и представить материалы о результатах использования и эффективности метода 24-часовой pH-импедансометрии для диагностики ГЭРБ. Осветить вопросы общего представления данного метода исследования, методики проведения процедуры 24-часовой pH-импедансометрии, а также оценить перспективы данной методики и её диагностический потенциал, в частности, текущее состояние и возможности развития в Российской Федерации.

**Методика.** Анализ более 20 работ, включающих в себя отдельные клинические исследования, некоторые метаанализы, материалы конференций и ряд исторических монографий, посвященных вопросу применения, пользы и условий проведения процедуры 24-часовой pH-импедансометрии. **Результаты.** Продемонстрированы данные, свидетельствующие о высокой эффективности суточной pH-импедансометрии в диагностике ГЭРБ, в частности, при бронхолегочных заболеваниях. Амбулаторное рефлюкс-мониторирование с pH-метрией – единственное исследование, которое может оценить связь рефлюксных симптомов с развитием рефлюкс-ассоциированной бронхиальной астмы. Оно показано перед решением вопроса об антирефлюксной хирургии при ГЭРБ, обычно у пациентов с отмененным лечением, для подтверждения связи симптомов с рефлюксом [13]. Возможность метода фиксировать высокие и газовые рефлюксы незаменима для диагностики ГЭРБ, протекающей с атипичными симптомами (хронический кашель, фарингит, регургитация и др.) [2]. Представлены сведения о методике и развитии 24-часовой импедансометрии в мировой медицине, а также информация о тенденциях в изучении данного способа в России.

**Заключение.** 24-часовая импедансометрия может быть рекомендована для диагностики ГЭРБ и связанных с ней патологических процессов. Имеющийся на сегодняшний день опыт использования pH-импедансометрии пищевода позволяет считать данный метод наиболее точным и современным в диагностике ГЭРБ. В связи с этим, целесообразно широкое внедрение pH-импедансометрии в практическую деятельность врачей общей практики и гастроэнтерологов для оптимизации диагностики и лечения ГЭРБ [10].

*Ключевые слова:* 24-часовая pH-импедансометрия, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, изжога, бронхолегочные заболевания

# GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE AND CHRONIC BRONCHOPULMONARY DISEASES. THE NEED FOR 24-HOUR pH IMPEDANCE MEASUREMENT

Gorbacheva E.M., Ilyushina I.V., Slonchakova D.M., Shadrina N.E., Dekhnich N.N., Punin A.A.

*Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28*

*Abstract*

**Objective.** To summarize and present materials on the results of the use and effectiveness of the method of 24-hour pH-impedance measurement for the diagnosis of GERD. To highlight the issues of the general presentation of this research method, the methodology of the 24-hour pH impedance measurement procedure, as well as to assess the prospects of this technique and its diagnostic potential, in particular, the current state and development opportunities in the Russian Federation.

**Methods**. Analysis of more than 20 papers, including individual clinical studies, some meta-analyses, conference materials and a number of historical monographs on the use, benefits and conditions of the 24-hour pH-impedance measurement procedure.

**Results.** The data testifying to the high efficiency of 24-hour pH impedance measurement in the diagnosis of GERD, in particular, in bronchopulmonary diseases, are demonstrated. Outpatient reflux monitoring with pH-metry is the only study that can assess the relationship of reflux symptoms with the development of reflux-associated bronchial asthma. Esophageal pH monitoring is indicated before deciding on antireflux surgery for GERD, usually in patients with discontinued treatment, to confirm the association of symptoms with reflux [13]. The ability of the method to fix high and gas reflux is indispensable for the diagnosis of GERD occurring with atypical symptoms (chronic cough, pharyngitis, regurgitation, etc.) [2]. Information about the methodology and development of 24-hour impedance measurement in world medicine, as well as information about trends in the study of this method in Russia, is presented.

**Conclusion**. 24-hour impedance measurement can be recommended for the diagnosis of GERD and related pathological processes. The current experience of using pH-impedance measurement of the esophagus allows us to consider this method the most accurate and modern in the diagnosis of GERD. In this regard, it is advisable to widely introduce pH-impedance measurement into the practical activities of general practitioners and gastroenterologists to optimize the diagnosis and treatment of GERD [10].

*Keywords:* 24-hour impedance measurement, gastroesophageal reflux disease, heartburn, bronchopulmonary diseases

## Введение

Проблема высокой распространенности, особенностей течения и вариабельности клинических проявлений гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) является одной из наиболее актуальных в современной медицине. Как самостоятельная нозология гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь была выделена в 1997 г. на междисциплинарном конгрессе в Генвале (Бельгия) и в том же году на VI Европейской гастроэнтерологической неделе была признана Европейским обществом гастроэнтерологов болезнью XXI века [9]. Однако симптомокомплекс, обусловленный забросом желудочного или желудочно-дуоденального содержимого в пищевод был известен задолго до этого.

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, согласно Монреальской классификации, – это состояние, которое развивается, когда рефлюкс содержимого желудка вызывает неприятные симптомы и/или осложнения [6]. Рефлюктат может быть кислотным, щелочным или газообразным.

Основными клиническими проявлениями ГЭРБ являются эзофагеальные или пищеводные симптомы (изжога, отрыжка, срыгивание, дисфагия, одинофагия, боли в эпигастрии и пищеводе, икота, рвота, ощущение кома за грудиной) и внеэзофагеальные или внепищеводные проявления (легочный, отоларингологический, стоматологический, анемический и кардиальный синдром) [4].

Существуют две теории, объясняющие процессы развития респираторных заболеваний на фоне ГЭРБ. В основе первой теории лежит явление микроаспирации желудочного содержимого в бронхиальное дерево с развитием экссудативного воспаления и бронхообструкции. Согласно второй теории, рефлюктат, попадая из желудка в пищевод, стимулирует чувствительные к кислоте рецепторы и через вагусную иннервацию вызывает бронхоспазм. При этом раздражение кислотных рецепторов n. vagus способно вызывать стойкий бронхоспазм и, как следствие, развитие заболеваний органов дыхания.

Актуальность проблемы заключается в ранней диагностике ГЭРБ у пациентов с хроническими бронхолегочными заболеваниями с целью профилактики синдрома взаимного отягощения [4]. В связи с этим в диагностике ГЭРБ основными должны быть методы, способные выявить функциональные изменения в пищеводе, которые не удается обнаружить с помощью эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) и традиционной pH-метрии пищевода. Новый метод диагностики гастроэзофагеальных рефлюксов – 24-часовая многоканальная импедансометрия пищевода в будущем может занять лидирующую позицию среди методов диагностики ГЭРБ, так как обладает рядом преимуществ. Метод позволяет фиксировать все эпизоды рефлюксов, включая рефлюксы жидкого, газообразного и смешанного содержимого. В комбинации с pH-метрией возможно характеризовать рефлюксы по уровню кислотности (кислый, слабокислый,

слабощелочной), определять время осуществления химического и объёмного клиренса и, таким образом, назначать наиболее рациональную терапию [10].

Респираторная симптоматика занимает ведущее место среди всех внепищеводных проявлений ГЭРБ, в частности симптомы рефлюкс-ассоциированной бронхиальной астмы (БА). Распространённость ГЭРБ среди взрослого населения, по данным ряда авторов, в среднем составляет 40-50% (ежегодный прирост составляет около 5%). В то же время истинные цифры распространённости, вероятно, выше, что связано с большой вариабельностью клинических проявлений – от эпизодически возникающей изжоги до ярких признаков осложнённого рефлюкс-эзофагита. В ходе анализа литературы были выявлены наиболее распространённые заболевания лёгких, сочетанные с ГЭРБ: в настоящее время ими являются хроническая обструктивная болезнь легкий (ХОБЛ) и БА. Вариативность распространённости ГЭРБ при ХОБЛ находится в пределах от 17% до 78% [11].

Серьезное изучение взаимосвязи между патологией верхнего отдела пищеварительного тракта и нарушениями со стороны бронхолегочной системы началось в последние 30-35 лет. Это стало возможным после широкого внедрения в клиническую практику метода 24-часовой pH-метрии, позволяющей достоверно регистрировать и количественно описывать кислые гастроэзофагеальные рефлюксы (ГЭР) и щелочные дуоденогастроэзофагеальные рефлюксы. Было установлено, что заброс кислого желудочного содержимого в пищевод, приводящий к снижению в его просвете pH, может служить причиной разных внепищеводных симптомов, в том числе связанных с поражением органов дыхания. C. Ruhl и J. Everhart выполнили крупное когортное популяционное исследование, наблюдая за больными с ГЭРБ (более 8500 человек) в течение 20 лет. Было показано, что даже у тех пациентов, у которых в начале исследования не была диагностирована бронхолегочная патология, к концу периода наблюдения значительно увеличился риск госпитализации из-за разного рода заболеваний органов дыхания [12].

Эпидемиологические исследования определили, что частота встречаемости классических симптомов ГЭРБ (изжога, кислая отрыжка, регургитация, боль в эпигастрии и дисфагия) значительно выше среди больных БА, чем в общей популяции. По разным оценкам, распространенность симптомов ГЭР среди больных БА составляет от 33 до 87,3%. Помимо этого, была отмечена высокая частота сочетания ГЭР с кашлем (90,5%) и другими респираторными симптомами (78,8%), которые считали совпадающими с рефлюксом, если значение pH в пищеводе ниже 4 отмечалось одновременно с респираторным событием или за 5 мин до его начала [12].

Есть данные, что у пациентов с сочетанием БА и ГЭРБ имеется взаимное отягощение этих патологических состояний, в том числе ГЭР способствуют развитию плохо контролируемой БА. Однако при этом важно отметить, что почти в 1/3 случаев у больных БА имеют место «немые рефлюксы», которые регистрируются с помощью инструментальных методов, но при этом никак не ощущаются пациентами субъективно. Это создает дополнительные трудности в диагностике ГЭРБ у больных БА и свидетельствует о необходимости тщательного обследования у данной категории пациентов верхних отделов пищеварительной системы [12].

Отмечается большое количество исследований на выявление связи между ГЭРБ и ХОБЛ. На основании базы данных исследований общей врачебной практики Великобритании L.A. García Rodríguez et al. выделили 2 группы пациентов: с первичным диагнозом ГЭРБ (n=4391; контрольная группа без ГЭРБ, n=5118) и с первичным диагнозом ХОБЛ (n=1628; контрольная группа без ХОБЛ, n=14243). Для изучения частоты развития ГЭРБ у больных ХОБЛ и возникновения ХОБЛ у пациентов с ГЭРБ обе группы сравнивали с контрольной группой. В течение 5-летнего периода наблюдения отношение рисков (ОР) впервые диагностированной ХОБЛ у пациентов с ГЭРБ составило 1,17 (95% доверительный интервал (ДИ) 0,91-1,49), тогда как ОР диагноза ГЭРБ у пациентов с ХОБЛ составило 1,46 (95% ДИ 1,19-1,78). Авторы пришли к выводу, что у пациентов с ХОБЛ риск возникновения ГЭРБ значимо выше, чем у пациентов без ХОБЛ.

Также было установлено, что ГЭРБ чаще встречается у пациентов с ХОБЛ по сравнению с контрольной группой без ХОБЛ. Наличие ГЭРБ при ХОБЛ, по-видимому, связано с усилением легочных симптомов, ухудшением качества жизни и увеличением частоты обострений ХОБЛ. У пациентов с тяжелой ХОБЛ была выявлена более высокая распространенность бессимптомного ГЭР. Поскольку бессимптомный ГЭР относительно часто встречается у больных ХОБЛ (16-74%), очень важно объективное подтверждение наличия ГЭРБ [1].

Повреждающие свойства рефлюксата, которые определяются его составом (соляная кислота, пепсин, желчные кислоты, лизолицетин, панкреатические ферменты и др.), могут способствовать возникновению симптомов и развитию как катаральных изменений, так и эрозий, и язв на слизистой оболочке пищевода (СОП) [8]. Причины рефрактерной ГЭРБ представляют собой большую группу гетерогенных факторов, обусловливающих неэффективность применения

ингибиторов протонной помпы (ИПП) в стандартной дозировке однократно в сутки в течение 8 недель терапии. Важным фактором патогенеза ГЭРБ считается снижение клиренса пищевода (нарушения моторной активности грудного отдела пищевода и уменьшение нейтрализующего действия бикарбонатов слюны и пищеводной слизи) [2].

Кроме того, к этиологическим факторам можно отнести несоблюдение пациентами схемы назначенного лечения, феномен «ночного кислотного прорыва», полиморфизм гена CYP2C19, «перекрест» с функциональными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, наличие некислых рефлюксов у пациента, увеличение количества и продолжительности периодов транзиторных расслаблений нижнего пищеводного сфинктера, наличие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и альтернативный диагноз [5]. Возникновению ГЭР также способствует повышение внутрибрюшного (ожирение, беременность) и внутрижелудочного давления (желудочный стаз, дуоденостаз функциональной или органической природы).

Цель исследования – обобщить и представить материалы о результатах использования и эффективности метода 24-часовой pH-импедансометрии для диагностики ГЭРБ. Осветить вопросы общего представления данного метода исследования, методики проведения процедуры 24-часовой pH-импедансометрии, а также оценить перспективы данной методики и её диагностический потенциал, в частности, текущее состояние и возможности развития в Российской Федерации.

## Методика

Процедура pH-импедансометрии. Рассматривая доступные и современные методики диагностики гастроэзофагеального рефлюкса, в 2002 г. консенсус из группы авторитетных специалистов в области изучения ГЭРБ заключил, что импедансометрия является высокочувствительным методом, способным идентифицировать все типы рефлюксов (кислые, слабокислые, слабощелочные и газовые рефлюксы), а в сочетании с pH-метрией даёт возможность наиболее полно охарактеризовать рефлюксы по кислотности [10].

Метод представляет собой комбинацию pH-метрии и многоканальной импедансометрии. В данном случае используются катетеры, имеющие как датчики импеданса, так и один или более pH-датчиков (рис. 1). При этом о наличии рефлюкса судят по изменению на импедансной кривой, тогда как pH-датчики позволяют дать химическую характеристику рефлюктата по значениям pH, а также оценить химический клиренс пищевода [7].

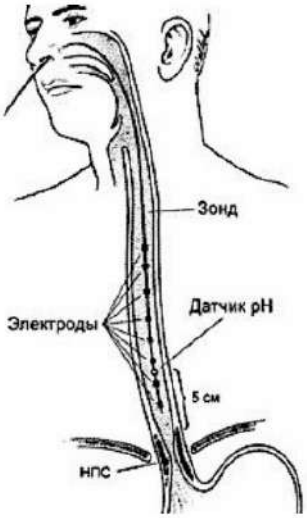



Рис. 1. Датчик pH и электроды для измерения импеданса на внутрипищеводном катетере

Катетер для импедансометрии представляет собой полимерную трубку, которая не проводит электрический ток, т.е. является изолятором. Снаружи, на расстоянии 2 см друг от друга на катетер нанизаны металлические электроды (шесть или семь пар). В случае необходимости измерения pH на уровне верхнего пищеводного сфинктера применяются катетеры с двумя pH датчиками в пищеводе, второй из которых расположен на 11 см выше первого, что оказывает

помощь в диагностике ГЭРБ, протекающей с атипичными симптомами (фарингит, хронический кашель и др.) [10]. В настоящее время на кафедре факультетской терапии Смоленского государственного медицинского университета используется ZpH-зонд (ZpH-3) с двумя pH-электродами в пищеводе (рис. 2).

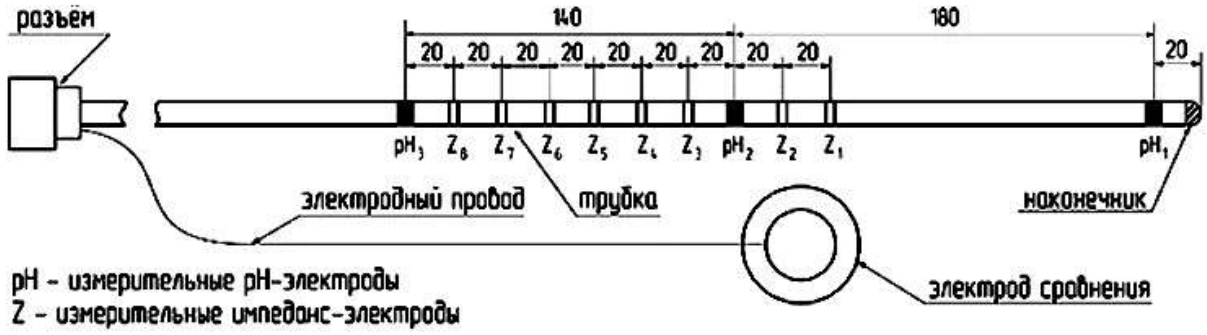



Рис. 2. ZpH-зонд с двумя pH-электродами в пищеводе

За 8-12 ч. до проведения исследования больной не должен принимать пищу, курить. Приём жидкостей запрещается за 3-4 ч. до начала исследования для уменьшения риска появления рвоты и аспирации, а также для предупреждения защелачивания желудочного содержимого [10].

Существует 2 варианта контроля положения электрода относительно НПС. В первом случае проводят рентгенологический контроль после введения зонда, во втором – перед процедурой проводят манометрическое исследование. Второй pH-электрод должен быть установлен на 5 см выше НПС. В следующие сутки больной ведет дневник, где отмечает время приёма пищи, возникающие симптомы, периоды пребывания в горизонтальном положении, независимо от того, совпадают они со сном или нет [10]. Спустя 24 ч. производится извлечение катетера, перенос информации с регистрирующего блока в базу данных персонального компьютера и анализ результатов.

В настоящее время существуют различные модификации зондов для pH-импедансометрии, проводимой на приборе отечественного производства «ГастросканИАМ». Наиболее часто применяется зонд с расположением двух pH-датчиков в желудке и одного в пищеводе на уровне 5 см над краем НПС в комбинации с 7 измерительными импедансными сегментами в пищеводе [9].

Имеющийся на сегодняшний день опыт использования pH-импедансометрии пищевода позволяет считать данный метод наиболее точным и современным в диагностике ГЭРБ. В связи с этим, целесообразно широкое внедрение pH-импедансометрии в практическую деятельность врачей общей практики и гастроэнтерологов для оптимизации диагностики и лечения ГЭРБ [10]. Данный метод позволяет максимально индивидуализировать подход к каждому пациенту и выбрать наиболее рациональный путь дальнейшей терапии.

## Обсуждение возможностей метода pH-импедансометрии

«Золотым стандартом» диагностики ГЭРБ являются ЭГДС и 24-часовая pH-метрия (или более современная pH-импедансометрия). Однако возможности использования этих высокоинформативных методик часто могут быть ограничены у больных БА в силу целого ряда причин: 1) наличие бронхиальной обструкции, особенно при высокой степени дыхательной недостаточности, обусловливает плохую переносимость инвазивных исследовательских процедур; 2) аллергические реакции на местные анестетики; 3) сопутствующая патология ЛОР-органов (аллергический ринит, полипозная риносинусопатия и др.) [12].

Метод pH-импедансометрии постоянно модифицируется, и недавно было также представлено 2 новых параметра: Средний ночной базальный импеданс (СНБИ) и Индекс пострефлюксной глоток-индуцированный перистальтической волны (ИПГПВ). СНБИ помогает дифференцировать рефлюкс-зависимые синдромы и может быть независимым от времени закисления пищевода маркером-предиктором улучшения симптоматики на фоне антирефлюксной терапии. В исследовании Marzio Frazzoni et al. показано, что измененный показатель ИПГПВ может являться независимым от ИПП терапии предиктором рефрактерности ГЭРБ [5]. У лиц, принимавших ИПП, время закисления пищевода и желудка, а также количество кислых рефлюксов статистически не

отличались среди пациентов, отвечающих и не отвечающих на терапию. Общее число рефлюксов и слабокислых рефлюксов напротив, были значительно чаще представлены у больных, не отвечающих на ИПП, в то время как индексы ПГПВ и базовые уровни ночного импеданса были статистически меньше в отличие от больных, симптомы у которых купировались ИПП. Низкий индекс ПГПВ указывает на нарушение очищения пищевода от кислого рефлюктата, т.е. время контакта кислого или слабокислого рефлюктата со слизистой оболочкой пищевода пролонгируется. Сниженный показатель ИПГПВ позволяет дифференцировать рефрактерную форму ГЭРБ от успешно пролеченного эзофагита ИПП и может явиться предиктором неоплазии короткого сегмента пищевода Барретта. При этом стоит помнить про корректную идентификацию, как эпизодов рефлюкса, так и пострефлюксной глоток-индуцированной перистальтической волны, правильная интерпретация которых была описана в Вингейтском консенсусе 2020 г. [5].

Амбулаторное рефлюкс-мониторирование с pH-метрией – единственное исследование, которое может оценить связь рефлюксных симптомов с развитием рефлюкс-ассоциированной бронхиальной астмы. Пищеводное pH-импеданс мониторирование способно оказать помощь пациентам с персистирующими рефлюксоподобными симптомами, плохо отвечающим на стандартную терапию, в диагностике рефлюксной и нерефлюксной болезни [13].

Возможность метода фиксировать высокие и газовые рефлюксы незаменима для диагностики ГЭРБ, протекающей с атипичными симптомами (хронический кашель, фарингит, регургитация и др.) [10]. Недостатком методов выявления ГЭР по измерению pH в просвете пищевода является необходимость рентгенологического или манометрического контроля положения зонда, чрезмерно высокая стоимость аппаратуры для суточного мониторинга pH, нежелание части больных участвовать в этих исследованиях.

## Заключение

Имеющийся на сегодняшний день опыт использования pH-импедансометрии пищевода позволяет считать данный метод наиболее точным и современным в диагностике ГЭРБ. В связи с этим, целесообразно широкое внедрение pH-импедансометрии в практическую деятельность врачей общей практики и гастроэнтерологов для оптимизации диагностики и лечения ГЭРБ [3].

## Литература (references)


1. Анаев Э.Х., Яковенко Э.П. Хроническая обструктивная болезнь легких и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь // Практическая пульмонология 2020. – С. 32-39. [Anaev Je.H., Jakovenko Je.P. *Prakticheskaja pul'monologija.* Practical pulmonology. – 2020. – P. 32-39. (in Russian)]
2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2020. – Т.30, №4. – С. 70-97. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Truhmanov A.S. i dr. *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology. – 2020. – V.30, N4. – P. 70-97. (in Russian)]
3. Кайбышева В.О., Сторонова О.А., Трухманов А.С. и др. Возможности внутрипищеводной pH-импедансометрии в диагностике ГЭРБ // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – №2. – С.4-16. [Kajbysheva V.O., Storonova O.A., Truhmanov A.S. i dr. Vozmozhnosti vnutripishchevodnoj rN-impedansometrii v diagnostike GERB // Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. – 2013. - N 2. - P.4-16. (in Russian)]
4. Капралов Н.В., Шоломицкая И.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и хроническая бронхолегочная патология: есть ли взаимная связь? // Сборник материалов I Республиканской научно-практической конференции. – Гродно, 2015. – С. 23-31. [Kapralov N.V., Sholomickaja I.A. *Sbornik materialov I Respublikanskoj nauchno-prakticheskoj konferencii.* Collection of materials of the Republican scientific-practical conference. – Grodno, 2015. – P. 23-31. (in Russian)]
5. Кляритская И.Л., Андреев В.М. Особенности ведения пациентов с рефрактерной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Крымский терапевтический журнал. – 2021. [Kljaritskaja I.L., Andreev V.M. *Krymskij terapevticheskij zhurnal*. Crimean Therapeutic Journal. – 2021. (in Russian)]
6. Лазебник Л.Б., Бордин Д.С., Машарова А.А. Общество против изжоги // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2007. – №4. – С. 5-10. [Lazebnik L.B., Bordin D.S., Masharova A.A.

Obshchestvo protiv izzhogi // Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. – 2007. – N4. - P. 5-10. (in Russian)]
7. Маев И.В., Баркалова Е.В., Овсепян М.А., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Возможности pH-импедансометрии и манометрии высокого разрешения при ведении пациентов с рефрактерной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Терапевтический архив. – 2017. – Т.89, №2. – С. 76-83. [Maev I.V., Barkalova E.V., Ovsepyan M.A., Kucheryavyj YU.A., Andreev D.N. Vozmozhnosti rN-impedansometrii i manometrii vysokogo razresheniya pri vedenii pacientov s refrakternoj gastroezofageal'noj reflyuksnoj bolezn'yu // Terapevticheskij arhiv. – 2017. – V.89, N2. – P. 76-83.]
8. Маев И.В., Юренев Г.Л., Бусарова Г.А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (Обзор материалов XVII Российской гастроэнтерологической недели, 10–12 октября 2011 г., Москва) // РЖГГК. – 2012. – Т.22. – №5. – С. 13-23. [Maev I.V., YUrenev G.L., Busarova G.A. Gastroezofageal'naya reflyuksnaya bolezn' (Obzor materialov XVII Rossijskoj gastroenterologicheskoj nedeli, 10–12 oktyabrya 2011 g., Moskva) // RZHGGK. – 2012. – V.22. – N5. – P. 13-23. (in Russian)]
9. Старостина С.В., Махов В.М., Сторонова О.А. и др. Возможности 24-часовой pH-импедансометрии пищевода в диагностике ГЭРБ-ассоциированных заболеваний гортани // Медицинский Совет. – 2020. – №16. – С. 62-72. [Starostina S.V., Mahov V.M., Storonova O.A. i dr. Vozmozhnosti 24-chasovoj pN-impedansometrii pishchevoda v diagnostike GERB-associirovannyh zabolevanij gortani // Medicinskij Sovet. – 2020. – N16. – P. 62-72. (in Russian)]
10. Трухманов А.С., Кайбышева В.О. pH-импедансометрия пищевода. Пособие для врачей / Под ред. акад. РАМН, проф. В.Т. Ивашкина – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М». – 2013. – С. 32. [Truhmanov A.S., Kajbysheva V.O. rN-impedansometriya pishchevoda. Posobie dlya vrachej / Pod red. akad. RAMN, prof. V.T. Ivashkina - M.: ID «MEDPRAKTIKA-M». – 2013. – P. 32. (in Russian)]
11. Федорова С.О., Козлова Н.М. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ассоциированная с заболеваниями респираторного тракта // Acta biomedica scientifica. – 2018. – Т.3, №3. – С. 103-107. [Fedorova S.O., Kozlova N.M. Acta biomedica scientifica. – 2018. – V3, N3. – P. 103-107. (in Russian)]
12. Юренев Г.Л., Самсонов А.А., Юренева-Тхоржевская Т.В., Маев И.В. Бронхообструктивный синдром у больных с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью: внепищеводное проявление заболевания или бронхиальная астма? // CONSILIUM MEDICUM. –2014. – Т.16., №8. – С. 33-38. [YUrenev G.L., Samsonov A.A., YUreneva-Thorzhevskaya T.V., Maev I.V. Bronhoobstruktivnyj sindrom u bol'nyh s gastroezofageal'noj reflyuksnoj bolezn'yu: vnepishchevodnoe proyavlenie zabolevaniya ili bronhial'naya astma? // CONSILIUM MEDICUM. – 2014. – V.16. – N8. – P. 3338. (in Russian)]
13. Richard Hunt, David Armstrong, Peter Katelaris and others. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: GERD Global Perspective on Gastroesophageal Reflux Disease // Journal of clinical gastroenterology. – 2017. – P. 467-478.

**Информация об авторах**

*Горбачева Екатерина Михайловна* – студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: go.ek.mikh@gmail.com

*Ильюшина Ирина Владимировна* – студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: ilyushina_iv@mail.ru

*Слончакова Дарья Максимовна* – студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: darya.slonchakova@mail.ru

*Шадрина Наталья Евгеньевна* – ассистент кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, врач-терапевт гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Клиническая больница №1». E-mail: n.shadrina05@gmail.com

*Дехнич Наталья Николаевна* – доктор медицинских наук, проректор по дополнительному профессиональному образованию и развитию регионального здравоохранения, профессор кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: n.dekhnich@mail.ru

*Пунин Александр Алексеевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: 001e316@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616-007-053.1* 3.1.18 Внутренние болезни

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.10 EDN: KVKIBF*

# КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

**© Шнырёва А.В.[1], Царёва В.М.[1], Рогутский Б.С.[2]**

*[1]Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*[2]Смоленская областная клиническая больница, Россия, 214019, Смоленск, просп. Гагарина, 27*

*Резюме*

**Цель.** Дать краткую характеристику структуры заболеваемости легочной гипертензией в Смоленском регионе, а также представить и проанализировать редкий клинический случай идиопатической легочной артериальной гипертензии.

**Методика.** Проведен ретроспективный анализ клинических историй болезни пациентов с диагнозом «Легочная гипертензия» за 2013-2023 гг. на базе отделений общей и неотложной кардиологии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». В анализ включено 32 истории болезни. Для изучения клинического случая ИЛАГ был выполнен подробный анализ медицинской документации нескольких медицинских учреждений, данных лабораторных и инструментальных методов исследования.

**Результаты.** В статье представлен редкий клинический случай первичной артериальной легочной гипертензии. Пациентке А. в возрасте 20 лет была диагностирована высокая легочная гипертензия. В феврале 2018 г. пациентка впервые была госпитализирована в ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ, где по результатам комплексного обследования (ЭхоКГ, сцинтиграфия легких) была диагностирована идиопатическая легочная гипертензия. Пациентке проводилась катетеризация правых отделов сердца, по результатам которой СДЛА = 102 мм рт.ст., ср.ДЛА = 77 мм рт.ст., ДЗЛА = 6 мм рт.ст. Учитывая тяжесть состояния, больной была инициирована ЛАГ-специфическая терапия антагонистом рецепторов к эндотелину – мацитентаном. В июле 2018 г. произошло ухудшение самочувствия, больная была повторно госпитализирована в «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ. Было принято решение об эскалации ЛАГ-специфической терапии и присоединении риоцигцата. В связи с высоким риском тромбоэмболических осложнений пациентке был назначен варфарин. Больная была выписана с улучшением. В 2019 г. после перенесенной ОРВИ у пациентки отмечалось ухудшение состояния, в «НМИЦ кардиологии» была проведена коррекция терапии до тройной ЛАГ-специфической с добавлением селексипага. В 2020 г. пациентка была доставлена в тяжелом состоянии в СОКБ в АРО после оперативного лечения апоплексии правого яичника.

**Заключение.** Данный клинический пример должен насторожить врачей всех специальностей в отношении данной патологии с целью улучшения прогноза больных с ИЛАГ.

*Ключевые слова:* первичная легочная гипертензия, идиопатическая легочная артериальная гипертензия, болезнь Аэрза

# CLINICAL CASE OF IDIOPATHIC PULMONARY HYPERTENSION

Shnyreva A.V.[1], Tsareva V.M.[1], Rogutsky B.S.[2]

*[1] Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

*[2] Smolensk Regional Clinical Hospital, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To give a brief description of the structure of the incidence of pulmonary hypertension in the Smolensk region, as well as to present and analyze a rare clinical case of idiopathic pulmonary arterial hypertension.

**Methods.** A retrospective analysis of clinical case histories of patients diagnosed with pulmonary hypertension for 2013-2023 was carried out on the basis of the departments of general and emergency cardiology of the Smolensk Regional Clinical Hospital. The analysis included 32 case histories. To study the clinical case and LAC, a detailed analysis of the medical documentation of several medical institutions, data from laboratory and instrumental research methods was performed.

**Results.** The article presents a rare clinical case of primary arterial pulmonary hypertension. Patient A. was diagnosed with high pulmonary hypertension at the age of 20. In February 2018, the patient was hospitalized for the first time at the FSBI "NMIC of Cardiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, where idiopathic pulmonary hypertension was diagnosed according to the results of a comprehensive examination (EchoCG, lung scintigraphy). The patient underwent catheterization of the right parts of the heart, according to the results of which SDLA = 102 mmHg, cf. DLA = 77 mmHg, DLA= 6 mmHg. Taking into account the severity of the condition, the patient initiated LAG-specific therapy with an endothelin receptor antagonist – macitentan. In July 2018, there was a deterioration in health, the patient was re-hospitalized in the "NMIC of Cardiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation. It was decided to escalate the LAG-specific therapy and administer riocigcate. Due to the high risk of thromboembolic complications, the patient was prescribed warfarin. The patient was discharged with improvement. In 2019, after undergoing acute respiratory viral infection, the patient's condition worsened, and therapy was corrected to triple LAG-specific therapy with the addition of selexipag in the "NMIC Cardiology". In 2020, the patient was taken in severe condition to the SOCB in the ARO after surgical treatment of apoplexy of the right ovary.

**Conclusions.** This clinical example should alert doctors of all specialties in relation to this pathology in order to improve the prognosis of patients with ILAG.

*Keywords:* primary pulmonary hypertension, idiopathic pulmonary arterial hypertension, Aerza disease

## Введение

Легочная гипертензия (ЛГ) – гемодинамическое и патофизиологическое состояние, которое характеризуется повышением среднего давления в легочной артерии (ДЛА)>20 мм рт. ст. в покое, измеренного при чрезвенозной катетеризации сердца (ЧВКС) [2]. В большинстве случаев она носит вторичный характер, однако встречается и первичная легочная гипертензия. Идиопатическая легочная артериальная гипертензия (ИЛАГ), болезнь Аэрзы – тяжелое прогрессирующее заболевание неуточненной этиологии, развивающееся в результате ограничения потока через легочное артериальное русло, что приводит к повышению легочного сосудистого сопротивления и в конечном итоге к недостаточности правого желудочка [3].

Согласно данным современных исследований, общая распространенность ИЛАГ в мире составляет 1-2 случая на миллион человек [4]. Установлено, что наиболее подверженным к развитию данной патологии является женский пол в возрасте от 20 до 40 лет. Средний возраст манифестации заболевания составляет 36,4 года [4, 8]. В патогенезе ИЛАГ значимую роль играют эндотелиальная дисфункция, при которой нарушается баланс в системе «вазодилатация – вазоконстрикция», редукция легочного сосудистого русла, снижение эластичности стенок легочных сосудов и облитерация их просвета, в первую очередь дистальных легочных артерий, в которых развиваются тромбоз, пролиферация, фиброзирование гладкомышечных клеток, местные воспалительные реакции, сопровождающиеся повышением уровней провоспалительных цитокинов, а в тромбоцитах – нарушением метаболизма серотонина [3, 5, 7].

Диагностика болезни Аэрза затруднительна, поскольку симптоматика на начальных этапах имеет неспецифический характер. Зачастую клинические проявления у пациентов развиваются уже после формирования необратимых изменений в сосудах легких [1]. Все больные с ИЛАГ подвержены высокому риску развития острой сердечно-сосудистой недостаточности и внезапной сердечной смерти [2, 6].

Цель исследования – дать краткую характеристику структуры заболеваемости легочной гипертензией в Смоленском регионе, а также представить и проанализировать редкий клинический случай идиопатической легочной артериальной гипертензии.

## Методика

В ходе исследования был проведен ретроспективный анализ клинических историй болезни пациентов с диагнозом «Легочная гипертензия» за 2013-2023 гг. на базе отделений общей и неотложной кардиологии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». Критерий включения в исследование – наличие выписки с федерального центра, ЛГ ФК ≥ 2-3. В анализ включено 32 истории болезни. Анализ осуществлялся с помощью пакета программ: ОС Windows 11, Microsoft Excel. Описательная статистика для количественных данных приведена в виде

M±SD, для качественных данных – в виде абсолютных значений и относительных частот (n, %). Для рассмотрения клинического случая ИЛАГ был выполнен подробный анализ медицинской документации нескольких медицинских учреждений, данных лабораторных и инструментальных методов исследования.

## Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования были установлены основные особенности заболеваемости легочной гипертензией в Смоленском регионе. Средний возраст пациентов на момент верификации диагноза ЛГ составил 55,3±12,51 лет (от 21 до 74). Наиболее часто данная патология диагностировалась у пациентов женского пола (n=19; 59,4%).

Структура заболевания была следующей: у большинства пациентов была диагностирована ХТЭЛГ (n=14; 43,8%), причем ХТЭЛГ стала отдаленным осложнением острой ТЭЛА у 8 пациентов в течение первых 2-х лет с момента перенесенного эпизода (57,14%). Далее в порядке убывания: ИЛГ (n=7; 21, 9%), ЛАГ-ВПС (n=6; 18,7%), ЛГ вследствие патологии левых отделов сердца (n=5; 15,6%).

Определенная взаимосвязь была установлена с Covid-19. У 6 больных произошла декомпенсация ЛГ после перенесенного Covid-19 в течение 6 месяцев (18,8%), что проявилось ухудшением клинической картины, повышением уровня СДЛА по данным ЭХОКГ и катетеризации правых отделов сердца). СрСДЛА в данной группе составило 113,83 мм.рт.ст., что было выше, чем в общей выборке. Причем нет достоверной связи, какие группы ЛГ больше подвержены декомпенсации – среди 6 пациентов 2 (33,3%) имели ХТЭЛГ, 2 (33,3%) ЛАГ-ВПС, 1 (16,7%) ИЛГ и 1 (16,7%) ЛГ, вследствие патологии левых отделов сердца.

Из приведенных кратких статистических данных видно, что первичная легочная гипертензия является достаточно редким заболеванием, однако каждый случай заслуживает внимания и обсуждения в виду высокой смертности пациентов с данной патологией.

Пациентка А., 1997 г.р., поступила в кардиологическое отделение ОГБУЗ СОКБ 08.12.2017 г. (на момент поступления 20 лет) с жалобами на одышку смешанного характера, сердцебиение, потемнение в глазах, шум в ушах, их заложенность при физической нагрузке, периодические колющие боли в области сердца, кашель с периодическим отделением небольшого количества светлой и желтоватой мокроты и желтовато-зеленые, периодически кровянистые выделения из носа.

Из анамнеза известно, что в 2007 г. пациентка перенесла сотрясение головного мозга в связи с ДТП, была госпитализирована, в ходе обследования было выявлено удвоение левой почки, патологии со стороны сердечно-сосудистой системы, со слов больной, обнаружено не было (ЭхоКГ выполнялось). Считала себя больной с сентября 2016 г., когда после перенесенной ОРВИ (с гипертермией) впервые возникло пресинкопальное состояние при подъеме по лестнице. С января 2017 г. пациентка отметила появление одышки, учащенного сердцебиения при обычной физической нагрузке, снижение работоспособности. Постепенно прогрессивно снижалась толерантность к физическим нагрузкам. В октябре 2017 года произошел эпизод потери сознания после ходьбы в быстром темпе, накануне синкопе чувствовала учащенное сердцебиение, выраженную слабость и заложенность в ушах. Обратилась к кардиологу в поликлинику по месту жительства, было рекомендовано: рамиприл 2,5 мг вечером, верошпирон 25 мг 2 р/д, аспаркам 1 таб 3 р/д, мексидол 1 таб 3 р/д, глицин 2 таб 3 р/д, цераксон 4,0 в/м №10 – без эффекта. В связи с прогрессивным ухудшением самочувствия пациентка была госпитализирована в кардиологическое отделение 08.12.2017 года для обследования и лечения.

При оценке общего анализа крови (ОАК) от 11.12.2017 – без патологии; в биохимическом анализе крови (БхАК) от 11.12.2017 отмечалась гипохолестеринемия (холестерин – 2,62 ммоль/л), незначительное повышение уровня ЛДГ (ЛДГ 256 Ед/л); коагулограмма от 11.12.2017 без патологии; общий анализ мочи (ОАМ) от 11.12.2017 – патологических отклонений выявлено не было, анализ крови на гормоны ЩЖ 12.12.17 – ТТГ – 3,0 Ед/л, Т4 – 14,3 нмоль/л – без особенностей.

ЭКГ от 30.11.17: Синусовая тахикардия с ЧСС 92 в мин. Резкое отклонение ЭОС вправо. Поворот сердца вокруг продольной оси по часовой стрелке. Нельзя исключить гипертрофию ПЖ. Очаговые изменения миокарда перегородочной области ЛЖ. з.TV2 (–), з. TV3 (–). PQ=0,13 сек., QT=0,32 сек.

30.11.2017 года была консультирована неврологом, выставлен диагноз*:* Последствия перенесенной черепно-мозговой травмы. Синдром ВСД. Цефалгия. Рекомендации даны.

При проведении ЭхоКГ 01.12.17 были выявлены ЭхоКГ-признаки выраженной легочной гипертензии, выставлено заключение: дилатация правых камер сердца, ствола и ветвей легочной артерии, гипертрофия правого желудочка (за счет боковой стенки и МЖП). Умеренная трикуспидальная, небольшая легочная регургитации. ЭхоКГ-признаки выраженной легочной гипертензии (СДЛА = 110 мм Hg). «D-образный» левый желудочек за счет перегрузки правого желудочка, неопределенное движение МЖП.

На основании данных анамнеза, клинической картины, инструментальных методов исследования (СДЛА = 110 мм Hg по данным ЭхоКГ) был установлен клинический диагноз: Высокая легочная гипертензия, II ФК. НК II А, II ФК. С момента поступления была начата терапия: цераксон 4,0 в/м, мексидол 1 таб 3 р/д, глицин 2 таб 3 р/д; после дообследования больной было назначено: ивабрадин 5 мг 2 р/д впоследствии в связи с брадикардией дозировка была уменьшена до 2,5 мг 2 р/д , эуфиллин 2,4% 5,0 + NaCl 0,9% в/в капельно №5, аскорутин 1 таб 3 р/д, промывание носа физиологическим раствором, витамин А, верошпирон 25 мг утром.

В процессе госпитализации пациентке было выполнено МСКТ органов грудной клетки от 14.12.17: в легких с обеих сторон без очаговых и инфильтративных теней. Свободной жидкости в плевральных полостях не определяется. Средостение расположено срединно, дополнительных образований в нем не определяется. Просвет крупных бронхов не изменен. Внутригрудные лимфоузлы – не увеличены. Сердце и крупные сосуды – не изменены. Костно-деструктивных, в том числе структурных, изменений не выявлено. ЛА с обеих сторон хорошо контрастированы до мелких ветвей, без дефектов наполнения – данных за ТЭЛА не выявлено. Диаметр ЛС до 37 мм. Выставлено заключение: данных за патологический процесс в органах грудной клетки при МСКТ не выявлено.

Также было выполнено УЗИ ОБП 14.12.17, заключение: узи-признаки деформации желчного пузыря (перегиб), УЗИ почек 14.12.17, заключение: неполное удвоение левой почки.

В ходе обследования пациентка была консультирована следующими узкими специалистами: эндокринологом 11.12.17 – был установлен диагноз: Хронический тиреоидит с узлообразованием. Клинический эутериоз. Рекомендации даны. Консультация оториноларинголога 12.12.17 – Данных за острую ЛОР-патологию не выявлено. DS: Ринит. Рекомендовано аскорутин 1 таб 3 р/д, промывание носа физиологическим раствором, витамин А 2-3 капли 3 р/д интраназально. Консультация офтальмолога 19.12.17 – выставлен диагноз: Миопия слабой степени обоих глаз.

ЭКГ 11.12.17: При сравнении с ЭКГ от 30.11.17, синусовая брадикардия с ЧСС 57 в мин. Относительное ускорение А-В проведения. PQ = 0,12 сек., QT = 0,38 сек. Остальные данные те же. 12.12.17 был выполнен ЭхоКГ-контроль, заключение: СДЛА 115 мм Hg. Далатация и объемная перегрузка правых камер сердца. Остальные данные прежние.

Пациенткой был пройден тест 6-минутной ходьбы от 13.12.17, результат составил 411,3 метра, повторный тест от 18.12.17 с результатом 488,3 метра.

На фоне проведенной терапии состояние пациентки несколько улучшилось, 19.12.17 больная была выписана из кардиологического отделения СОКБ в удовлетворительном состоянии. Выставлен диагноз. Основное заболевание: Высокая легочная гипертензия, II ФК. Осложнение: НК II А, II ФК. Сопутствующее: Последствия перенесенной черепно-мозговой травмы. Синдром ВСД. Цефалгия. Хронический тиреоидит с узлообразованием. Клинический и лабораторный эутиреоз. Хронический пиелонефрит вне обострения. Неполное удвоение левой почки. Ринит. Миопия слабой степени обоих глаз. Материалы истории болезни переданы в «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ с целью определения дальнейшей тактики ведения пациентки. Даны рекомендации: верошпирон 25 мг утром или эплеренон (инспра, эспиро) 25 мг утром.

В феврале 2018 г. пациентка впервые была госпитализирована в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» МЗ РФ, где по результатам комплексного обследования (ЭхоКГ, сцинтиграфия легких, скрининговое исследование на заболевания соединительной ткани) была диагностирована идиопатическая легочная гипертензия. Пациентке проводилась катетеризация правых отделов сердца, по результатам которой СДЛА = 102 мм рт.ст., ср.ДЛА = 77 мм рт.ст., ДЗЛА = 6 мм рт.ст. Данные теста 6-минутной ходьбы: пройденная дистанция – 425 метров, степень одышки по шкале Борга – 3-4 балла (умеренная одышка). Учитывая тяжесть состояния, снижение толерантности к физическим нагрузкам, прогрессирование легочной гипертензии и факторы неблагоприятного прогноза, больной была инициирована ЛАГ-специфическая терапия антагонистом рецепторов к эндотелину, мацитентаном 10 мг/сут. В дальнейшем на этапе амбулаторных обследований отмечалось умеренное повышение

печеночных трансферах (не более 3-х верхних границ нормы). В июле 2018 г. состоялся повторный эпизод потери сознания (сразу после посещения бани). 10.09.2018 г. больная была повторно госпитализирована во второе кардиологическое отделение «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ в связи с ухудшением состояния для дообследования и определения дальнейшей тактики ведения пациентки. На момент госпитализации пациентка предъявляла жалобы на одышку, колющую боль в левой половине грудной клетки, учащенное сердцебиение при физической нагрузке (при ускорении темпа ходьбы, подъеме по лестнице на два этажа), проходящие самостоятельно в покое в течение 3-5 минут, выраженную общую слабость и головокружение. Больная регулярно получала медикаментозную терапию мацитентаном 10 мг/сут.

Объективный статус при поступлении: состояние средней степени тяжести, стабильное. Положение активное. Рост 163 см, масса тела 61 кг. Индекс массы тела – 23 кг/м$^2$. Температура тела 36,6ºС. Кожные покровы чистые, обычной окраски, умеренной влажности. Гиперемия щек. Слизистые оболочки бледно-розовой окраски, чистые, умеренной влажности. Подкожно-жировой слой развит умеренно. Лимфоузлы, доступные пальпации, не увеличены. Костно-суставная система, мышечная система – внешне без грубых деформаций, мышечной тонус не изменен. Щитовидная железа не увеличена. Периферических отеков нет. Органы дыхания: форма грудной клетки нормостеническая. Дыхание через нос свободное. ЧДД – 17/мин. Обе половины грудной клетки участвуют в акте дыхания равномерно. Аускультация легких: дыхание проводится во все отделы, везикулярное с жестким оттенком, хрипов нет. Шума трения плевры нет. Органы кровообращения: область сердца визуально не изменена. Сердечный толчок не определяется. Верхушечный толчок определяется в V межреберье на 1,7 см кнутри от lin. medioclavicularis sinistra. Границы относительной сердечной тупости: правая – на 2 см кнаружи от правого края грудины, левая – в V межреберье на 1,7 см кнутри от lin. medioclavicularis sinistra, верхняя – в III межреберье. Тоны сердца ясные, патологических шумов нет. Акцент второго тона над легочной артерией. Ритм правильный. ЧСС – 84 уд/мин, пульс – 84 уд/мин. АД (мм рт.ст.): на правой руке – 100/70, на левой руке – 100/70. Пульсация периферических сосудов удовлетворительных свойств, D=S. Шумы над сонными, почечными артериями и в проекции брюшного отдела аорты не выслушиваются. Органы пищеварения: аппетит хороший. Язык влажный, чистый. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах. Нижний край печени по краю правой реберной дуги, при пальпации эластичный, гладкий. Стул нормальный. Мочевыделительная система: мочеиспускание свободное, безболезненное. Неврологический статус – без особенностей.

Данные лабораторных исследований: ОАК, ОАМ от 11.09.18 без патологии. В БхАК от 11.09.18 г. отмечалось повышение уровня печеночных ферментов – АЛТ 47,0 Ед/л (N: 3,0-40,0); АСТ 41,0 Ед/л (N: 3,0-29,0); билирубин общий 22,4 мколь/л (N: 1,7-20,5), гипопротеинемия – 57,0 г/л (N: 64,0-83,0), незначительное снижение уровня общего холестерина – 3,45 ммоль/л (N: 3,5-5,00). БхАК от 12.09.18 г. в динамике без существенных изменений. Определение Д-Димера количественного от 11.09.18 – 0,30 мкг/мл. Коагулологическое исследование от 11.09.18: протромбиновое время – 12,8 сек, МНО – 1,17, протромбин по Квику – 80,0%.

Данные инструментальных исследований. ЭКГ от 10.09.18 г.: Ритм синусовый, регулярный. ЧСС = 97/мин. Отклонение электрической оси сердца вправо. Изменение предсердного компонента с признаками P-pulmonale. Признаки изменения миокарда вследствие гипертрофии правого желудочка. Нарушение внутрижелудочковой проводимости.

Рентгенологическое исследование грудной клетки от 11.09.18 г.: Легкие – полипозиционно (рентгенография), сердце – с контрастированием пищевода (рентгенография). В легких очаговых и инфильтративных изменений не выявляется. Легочный рисунок видоизменен: сосудистый рисунок обеднен на периферии легочных полей. Нарушения легочной гемодинамики имеются. Артериальная легочная гипертензия – значительно выражена: выбухает ствол ЛА, увеличен коэффициент Мура = 32% (N=22-30%), увеличена выпуклость (высота) легочного сегмента – 10 мм (N=0-1 мм), увеличен коэффициент Люпи = 38% (N до 33%). Корни легких структурны, расширены. Нисходящая ветвь правой ЛА = 18 мм (N<15 мм), левая ЛА = 28 мм, правая ЛА = 29 мм (N<24 мм). Диафрагма расположена обычно. Плевральные синусы свободны. Правый желудочек увеличен, правое предсердие увеличено, правопредсердный коэффициент = 45% (N<35%). Аорта не изменена. Верхняя полая вена расширена. Непарная вена не расширена. Заключение: Изменения соответствуют высокой артериальной легочной гипертензии. Увеличение правых отделов сердца. Расширена верхняя полая вена. По сравнению с данными от 19.02.18 г. динамика отрицательная: увеличились размеры сердца (правых камер), ширина главных ветвей ЛА, поперечник верхней полой вены.

Спирометрия с компьютерной обработкой данных (ФВД) от 11.09.18 г.: Жизненная емкость легких и показатели проходимости дыхательных путей в пределах возрастной нормы.

Тест с 6-минутной ходьбой от 12.09.18 г.: пройденная дистанция – 435 метров (без остановок). Одышка до начала исследования отсутствовала. Степень одышки по десятибалльной шкале Борга после завершения теста 6 баллов (сильная одышка). Сатурация на атмосферном воздухе до начала теста – 97%, после завершения – 99%. Пульс до начала теста – 75 уд/мин, после завершения – 120 уд/мин.

Дуплексное сканирование вен верхних конечностей от 12.09.18. При исследовании вен обеих верхних конечностей выявлено: кубитальные вены диаметром справа – 4,2 мм, слева – 2,5 мм, проходимы, сжимаемы без признаков тромбоза; v. Basilica диаметром справа – 3,0 мм, слева – 3,8 мм, проходимы, сжимаемы до конца, без признаков тромбоза. С обеих сторон отмечается слияние v. Basilica и плечевой вены в верхней трети плеча; подключичные вены, проходимы, окрашиваются в режиме ЦДК, кровоток по ним синхронизирован с дыханием, без признаков тромбоза; глубокие вены с обеих сторон на плече проходимы, сжимаемы до конца, без признаков тромбоза. Обращает на себя внимание расширение правой яремной вены.

12.09.19 г. пациентке была выполнена катетеризация правых отделов сердца, являющаяся «золотым стандартом» для верификации диагноза ИЛГ: ДЛА (систол./диастол./средн.): 136/57/82 мм рт.ст. Давление ПП (систол./диастол./средн.): 18/13/11 мм рт.ст. Давление ПЖ (систол./диастол./средн.): 147/-10/31 мм рт.ст. Давление заклинивания ЛА (среднее из 3 систолических): 13 мм рт.ст.

УЗИ органов брюшной полости от 12.09.18 г.: Небольшие диффузные изменения паренхимы печени.

В ходе обследования была выполнена комплексная эхокардиография (М- и В-режим, ЦДК, допплерография) от 12.09.18. Аорта: не уплотнена, не расширена, АО корень = 2,6 см (N=2,0-3,7 см). Левое предсердие не увеличено: ЛП = 2,85 см (N=2,7-3,8 см), объем ЛП = 25 мл (N до 52 мл), индекс объема ЛП = 15,7 мл/м$^2$ (N до 34 мл/м$^2$). Полость левого желудочка не расширена: КДР = 3,7 см (N=3,8-5,2 см). Индекс эксцентричности = 1,4 (N=1,0). Сократительная функция миокарда левого желудочка удовлетворительная: ФВ = 60% (по Симпсону) (N=54-74%). Нарушений локальной сократимости нет. Межжелудочковая перегородка не утолщена: ТМЖП = 0,7-0,8 см (N=0,6-0,9 см), движение МЖП – парадоксальное, обусловленное перегрузкой ПЖ давлением. Задняя стенка левого желудочка не утолщена: ТЗСЛЖ = 0,7-0,8 см (N=0,6-0,9 см). Аортальный клапан: створки не уплотнены, амплитуда раскрытия нормальная. Митральный клапан: створки не уплотнены, противофаза есть. Легочный клапан: створки не уплотнены. Правое предсердие расширено: S ПП = 29-30 см$^2$ (N<18 см$^2$). Правый желудочек расширен: ПЗР = 3,5 см (N до 2,9 см), апикально = 4,75 см (N до 4,2 см). Толщина передней стенки ПЖ: ТПСПЖ = 0,7 см (N<0,5 см). Легочная артерия расширена: ствол ЛА = 3,0 см (N<2,7 см), правая ветвь ЛА = 1,8 см (N до 1,5 см), левая ветвь ЛА = 1,8 см (N до 1,5 см). Нижняя полая вена расширена: 2,4/1,8, коллабирует <50%. Признаки легочной гипертензии есть: СДЛА = 140 мм рт.ст. (N до 30 мм рт.ст.), мГДсТК = 125 мм рт.ст., ДЗЛА (по ТМД) = 5 мм рт.ст. (N до 12 мм рт.ст.), срГДсТК = 64 мм рт.ст. Признаков обструкции ВТЛЖ нет. Допплерэхокардиография: патологические потоки в полостях сердца не выявлены. Признаки недостаточности клапанов: митрального 1 ст., трикуспидального 2 ст., легочного 1 ст. Признаков стеноза клапанов нет. Трансмитральный поток: замедленная релаксация. Диастолическая функция миокарда ЛЖ нарушена: Е 48 см/с; ТМД: Em l =4 (N>13 см/с). Комментарий: Объем жидкости в полости перикарда – следовое количество жидкости в проекции АВ-борозды. Выставлено заключение: Дилатация правых отделов сердца с признаками перегрузки ПЖ давлением. Высокая артериальная ЛГ. Расширение ствола ЛА и ее ветвей. Гипертрофия миокарда ПЖ. Выраженное снижение глобальной сократимости ПЖ, нарушение его диастолической функции. Регургитация ТК 2 ст., ЛК 1 ст. НПВ незначительно расширена, коллабирование на вдохе снижено. В полости перикарда в проекции ПЖ определяется следовое количество жидкости. По сравнению с ЭхоКГ от 21.02.18 г. за предыдущую госпитализацию отмечается отрицательная динамика. Холтеровское мониторирование 24 часа от 17.09.18: без особенностей.

Таким образом, на фоне проводимой терапии мацитентаном 10 мг/сут у больной по результатам комплексного обследования, включающего рентгенографию ОГК, ЭхоКГ, КПОС, была выявлена отрицательная динамика. Учитывая высокую легочную гипертензию, прогрессирование заболевания, предикторы неблагоприятного прогноза, низкий функциональный класс, по витальным показаниям принято решение об эскалации ЛАГ-специфической терапии – присоединение второго препарата, стимулятора гуанилатциклазы – риоцигцата. Терапия была инициирована за время госпитализации в стационаре с положительным клиническим эффектом, аллергических и побочных реакций не отмечалось. По жизненным показаниям пациентке показано продолжение приема 2-компонентной ЛАГ-специфической терапии. В связи с выявленными явлениями недостаточности кровообращения, больной в период госпитализации проводилась

диуретическая терапия, прием которой необходимо продолжить на амбулаторном этапе под контролем массы тела, гидробаланса. Принимая во внимание высокий риск тромбоэмболических осложнений, пациентке показан прием оральных антикоагулянтов – варфарина (целевой МНО – 1,5-2,5). В связи с выявленной гипопротеинемией больной была рекомендована высокобелковая диета, прием высококалорийных смесей для специализированного питания взрослых.

За весь период госпитализации пароксизмальных нарушений ритма сердца, болей в грудной клетке не отмечалось. Показатели АД были стабилизированы в пределах 90-100/60-70 мм рт.ст., ЧСС 82-88 уд/мин. 18.09.2018 г. пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии домой для продолжения лечения под наблюдением кардиолога по месту жительства. Заключительный диагноз. Основное заболевание: Идиопатическая легочная гипертензия. Функциональный класс III (ВОЗ). Легочное сердце: относительная недостаточность трикуспидального клапана 2 степени. Осложнения: Хроническая сердечная недостаточность IIA стадии. Сопутствующие заболевания: Неполное удвоение левой почки. Миопия слабой степени обоих глаз. Узловой зоб, эутиреоз. Пациентке были даны общие рекомендации по соблюдению строгого режима труда и отдыха, режима питания (высокобелковая диета, соблюдение диеты при приеме варфарина), а также рекомендации по приему лекарственных препаратов: мацитентан 10 мг 1 таб 1 р/д, риоцигуат 1 мг 3 р/д с последующей титрацией дозы на 0,5 мг 3 раза в сутки каждые 2 недели до максимальной дозы (2,5 мг 3 р/д) под контролем АД. Данные препараты для пациентки являются жизненно необходимыми, замене и отмене не подлежат. Также было назначено: варфарин 2,5 мг по 2 таб 1 р/д под строгим контролем МНО (целевой МНО 1,5-2,5), спиронолактон 25 мг 1 таб утром, фуросемид 40 мг ½ таб 2 раза в неделю, утром под контролем массы тела и гидробаланса.

С момента последней госпитализации в «НМИЦ кардиологии» пациентка состояла на учете у кардиолога по месту жительства. В 2019 г. после перенесенной ОРВИ у пациентки отмечалось ухудшение состояния, в «НМИЦ кардиологии» была проведена коррекция лечения в виде эскалации до тройной ЛАГ-специфической терапии: мацитентан 10 мг 1 р/д, риоцигуат 2,5 мг 3 р/д, селексипаг 200 мг 2 р/д (агонист простациклиновых рецепторов); также были назначены торасемид 2,5 мг утром, спиронолактон 50 мг утром, ивабрадин 2,5 мг 2 р/д.

10.11.2020 г. в 21:25 пациентка была доставлена в тяжелом состоянии санитарным транспортом на ИВЛ в СОКБ отделение анестезиологии и реанимации из Велижской ЦРБ с диагнозом: Ранний послеоперационный период после лапаротомии по Пфанненштилю, резекции правого яичника, санации и дренирования брюшной полости по поводу апоплексии правого яичника (геморрагическая форма), геморрагический шок, тяжелая постгеморрагическая анемия, ДВС-синдром. ОСА (Идиопатическая легочная гипертензия 3 ФК).

В ОАК от 10.11.20 г. 22:56 при поступлении обращает на себя внимание анемия средней степени тяжести (RBC – $2{,}39\times10^{12}$/L, HGB – 76 g/L, HCT – 22,2 %), нейтрофильный лейкоцитоз (WBC – $11{,}5\times10^{9}$/L, NE – 86,3%), незначительная тромбоцитопения (PLT – $114\times10^{9}$/L). В БхАК от 10.11.20 22:40 отмечается гипопротеинемия (общий белок – 59 г/л), гипергликемия (глюкоза – 11,1 ммоль/л), повышение уровня креатинина (127 мкмоль/л). В коагулограмме от 10.11.20 22:40 повышены показатели: протромбиновое время (31,50 с), МНО (2,56 МЕ).

10.11.20 г. в 23:30 пациентка была консультирована дежурным кардиологом. На ЭКГ: Синусовая тахикардия, ЧСС 120/мин. Отклонение ЭОС вправо. Признаки гипертрофии правых отделов сердца. Был выставлен диагноз: Идиопатическая легочная гипертензия 3 ФК. Рекомендован контроль МНО с последующим решением вопроса об антикоагулянтной терапии.

В АРО проводилась интенсивная и гемотрансфузионная терапия, направленная на поддержание жизненно важных функций организма.

11.11.20 г. в 08:15 больная была осмотрена гинекологом. Состояние расценивалось как крайне тяжелое. Выставлен диагноз: Апоплексия правого яичника. Гемоперитонеум. Состояние после лапаротомии, резекции правого яичника, санации, дренирования брюшной полости. ДВС-синдром? Постгеморрагическая анемия тяжелой степени. Рекомендовано: консультация кардиолога, УЗИ органов малого таза (с целью подтверждения/исключения свободной жидкости), решение вопроса о релапаротомии по результатам УЗИ. УЗИ малого таза 11.11.20 г. 09:30: В полости малого таза определяется свободная жидкость в умеренном количестве, сгустки в заднем отделе в незначительном количестве. УЗИ ОБП 11.11.20 г.: Печень увеличена, диффузно повышенной эхогенности. Признаки застоя в системе НПВ. Свободная жидкость во всех отделах брюшной полости. Поджелудочная железа не визуализируется. Селезенка без особенностей. Почки средних размеров. Паренхима диффузно повышенной эхогенности, ЧЛС не расширена.

11.11.20 г. в 09:30 повторный осмотр гинеколога: Учитывая клиническую картину и данные дополнительных методов исследования больной показано дальнейшее лечение в условиях АРО,

показаний для релапаротомии нет, данные за продолжающееся внутреннее кровотечение отсутствуют.

11.11.20 г. в 08:30 пациентка была повторно консультирована кардиологом. Фиксировалась нестабильная гемодинамика (АД 70/40 мм рт.ст.). В 07:40 по ЭКГ-монитору была зафиксирована пробежка желудочковой тахикардии. Состояние крайне тяжелое. Кожные покровы бледные. Дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, глухие, отмечается появление систолического шума на верхушке сердца, в т. Боткина. Живот мягкий, по дренажу 100 мл геморрагической жидкости. Повязки пропитаны геморрагическим отделяемым. По мочевому катетеру за ночь 400 мл желтой мочи. Пастозность стоп, голеней. Диагноз прежний. Рекомендован ЭКГ, ЭхоКГ-контроль. Варфарин отменить.

ЭКГ 11.11.20 г.: Синусовая тахикардия, ЧСС 120 в мин. Не исключается наджелудочковая предсердная тахикардия. ЭОС резко отклонена вправо. Блокада задней ветви ЛНПГ. Блокада ПНПГ. Признаки гипертрофии ПЖ с перегрузкой.

Заключение ЭхоКГ от 11.11.20 г.: Правые камеры сердца значительно превалируют над левыми. Левый желудочек С-образный. Значительная гипертрофия миокарда правого желудочка. Дилатация правых камер сердца. Легочная гипертензия высокой степени (СДЛА = 140 мм рт.ст.). Глобальная сократимость левого желудочка сохранена. Парадоксальное движение МЖП. Небольшая гипертрофия миокарда левого желудочка. Увеличение левого предсердия. Выраженная трикуспидальная, умеренные митральная и легочная регургитации. В 19:45 11.11.20 проведен ЭхоКГ-контроль: СДЛА 85 мм рт.ст. Остальные данные прежние.

Несмотря на проводимую гемотрансфузионную терапию в лабораторных показателях отмечалась отрицательная динамика. В ОАК от 11.11.20 г. 06:50 сохранялась тенденция снижения уровня эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов (RBC – $2{,}07\times10^{12}$/L, HGB – 67 g/L, PLT – $73\times10^{9}$/L), нарастание лейкоцитоза (WBC – $14{,}5\times10^{9}$/L). В БхАК от 11.11.20 10:42 также сохраняется отрицательная динамика в виде нарастающей гипопротеинемии (46 г/л), гипоальбуминемии (29 г/л), повышения уровня мочевины (9,6 ммоль/л), креатинина (180 мкмоль/л), повышении АЛТ (52 Ед/л), АСТ (81 Ед/л), гиперкалиемии (5,3 ммоль/л), гипонатриемии (130,4 ммоль/л). Коагулограмма от 11.11.20 11:09 – без существенных изменений.

В БхАК от 11.11.20 г. 14:56 фиксировалась стойкая отрицательная динамика по всем основным показателям: гипопротеинемия (52 г/л), повышение уровня общего и прямого билирубина (27,6 мкмоль/л; 17,2 мкмоль/л), гипогликемия (2,1 ммоль/л), увеличение креатинина до 195 мкмоль/л, повышение АЛТ, АСТ (235 Ед/л; 403 Ед/л), гиперкалиемия (5,7 ммоль/л), гипонатриемия (133,7 ммоль/л). В коагулограмме от 11.11.20 14:57: протромбиновое время – 29,10 с, МНО – 2,35 МЕ, АЧТВ – 38,30 с. В ОАК от 11.11.20 17:48 зафиксирован минимальный уровень тромбоцитопении (PLT – $31\times10^{9}$/L).

Крайне тяжелое состояние больной с отрицательной динамикой обусловлено геморрагическим шоком 3 ст, ДВС-синдромом, длительным течением идиопатической легочной гипертензии. Несмотря на проводимую интенсивную терапию, состояние больной прогрессивно ухудшалось (нестабильность гемодинамики, нарастающая гипотония на фоне инотропной поддержки, выраженная тахикардия). В 21:00 на фоне интенсивной терапии у пациентки развилась остановка сердечной деятельности, были начаты реанимационные мероприятия в полном объеме в течение 30 мин. На фоне проводимых реанимационных мероприятий восстановления сердечной деятельности нет. 11.11.20 г. в 21:30 констатирована биологическая смерть. Выставлен посмертный диагноз. Основные сочетанные заболевания: Идиопатическая легочная гипертензия 3 ФК. Апоплексия правого яичника, геморрагическая форма (состояние после лапаротомии по Пфанненштилю, резекции правого яичника, санации и дренирования брюшной полости от 10.11.2020 г.). Осложнения: Декомпенсированный необратимый геморрагический шок. Тяжелая постгеморрагическая анемия. Тромбоцитопения. ДВС-синдром.

В ходе патологоанатомического исследования была установлена причина смерти: фолликулярная киста правого яичника с кровоизлиянием и кровотечением в брюшную полость на фоне первичной идиопатической легочной гипертензии и приема варфарина, осложнившаяся геморрагическим шоком.

## Заключение

Таким образом, самой распространенной формой вторичной легочной гипертензии в Смоленском регионе за последние 10 лет стала хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (43,8% от всех случаев). В рамках исследования было зафиксировано 7 случаев идиопатической легочной

гипертензии, что составило 21,9%. Несмотря на то, что ИЛАГ является редким заболеванием, она представляет большую опасность, поскольку отмечается худшим прогнозом по сравнению с другими формами легочной гипертензии. Болезнь Аэрза на сегодняшний момент является глобальной проблемой здравоохранения в связи с затруднительной диагностикой на ранний этапах, уменьшением возраста дебюта заболевания, не всегда эффективной монотерапией и комбинаций ЛАГ-специфических препаратов, часто прогрессирующим течением с быстрым развитием декомпенсации правого желудочка, фатальным прогнозом, дорогостоящим лечением, а также невысоких показателей выживаемости после оперативного лечения ИЛАГ (трансплантация легких или комплекса сердце-легкие).

Описание современного состояния проблемы диагностики и лечения данной патологии с рассмотрением приведенного клинического случая, по нашему мнению, может повысить настороженность врачей всех специальностей в отношении данного заболевания с целью диагностики ИЛАГ на ранних этапах и оперативном направлении пациента в специализированный региональный или экспертный центр.

## Литература (references)


13. Ефремова О.А., Логвиненко С.И., Бочарова М.А., Губарева Н.А. Редкий случай в практике врача терапевта – первичная легочная гипертензия // Научные ведомости. – 2011. – Т.117, №22. – С. 281-284. [Efremova O.A., Logvinenko S.I., Bocharova M.A., Gubareva N.A. *Nauchnye vedomosti.* Scientific bulletin. – 2011. – V.117, N22. – P. 281-284. (in Russian)]
14. Клинические рекомендации «Легочная гипертензия, в том числе хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия» МЗ РФ. – 2023. – 152 с. [*Klinicheskie rekomendacii «Legochnaja gipertenzija, v tom chisle hronicheskaja trombojembolicheskaja legochnaja gipertenzija».* Clinical recommendations "Pulmonary hypertension, including chronic thromboembolic pulmonary hypertension". – 2023. – 125 p. (in Russian)]
15. Породенко Н.В., Скибицкий В.В., Запевина В.В. Диагностика и лечение первичной легочной гипертензии: современный взгляд на проблему // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – №3. – С. 140-144. [Porodenko N.V., Skibickij V.V., Zapevina V.V. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* Kuban Scientific Medical Bulletin. – 2014. – N3. – P. 140-144. (in Russian)]
16. Романова К.Р., Хацук А.С. Первичная легочная гипертензия // Международный студенческий научный вестник. – 2022. – №3. [Romanova K.R., Hacuk A.S. *Mezhdunarodnyj studencheskij nauchnyj vestnik.* International Student Scientific Bulletin. – 2022. – N3. (in Russian)]
17. Трисветова Е. Л. Диагностика и лечение легочной гипертензии // Медицинские новости. – 2009. – №15. – С. 13-18. [Trisvetova E. L. *Medicinskie novosti.* Medical news. – 2009. – N15. – P. 13-18. (in Russian)]
18. Hoeper MM, Humbert M, Souza R, et al. A global view of pulmonary hypertension // Lancet Respiratory Medicine. – 2016. – N4. – P. 306-322.
19. Sitbon O. Pathways in pulmonary arterial hypertension: the future is here // European Respiratory Review. – 2012. – V.21, N126. – P. 321-327.
20. Vachiery J.L. Challenges in the treatment of pulmonary arterial hypertension // European Respiratory Review. – 2012. – V.21, N126. – P. 313-320.


**Информация об авторах**


*Шнырёва Анастасия Владимировна* – ординатор кафедры терапии, ультразвуковой и функциональной диагностики факультета ДПО ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: kravtsiva1999@bk.ru

*Царёва Валентина Михайловна* – доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии, ультразвуковой и функциональной диагностики факультета ДПО ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: tsarev.al@mail.ru

*Рогутский Богдан Сергеевич* – врач кардиолог отделения неотложной кардиологии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». E-mail: rogutsky@me.com



**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.33-002.2* 3.1.18 Внутренние болезни

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.11 EDN: LHQYLT*

# ГАСТРИТ И ДУОДЕНИТ В АМБУЛАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ КАК ОТРАЖЕНИЕ СИМПТОМОВ ДИСПЕПСИИ

**© Жесткова Т.В.[1], Есакова Е.М.[2], Ефанова Л.В.[2], Крютченко Е.П.[2], Разживина Е.Г.[2]**

[1]*Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Россия, 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, 9*

[2]*Городская клиническая больница №4, Россия, 390023, Рязань, ул. Есенина, 17*

*Резюме*

**Цель**. Оценить распространенность гастрита и дуоденита в структуре общей заболеваемости населения, территориально прикрепленного к городской поликлинике, за 5 лет наблюдения.

**Методика**. Ретроспективно изучены данные годовых отчетов городской поликлиники за 2018-2022 гг. Обобщены обезличенные жалобы, 100 пациентов с установленным основным диагнозом по МКБ-10 код K29.3 – K29.7.

**Результаты**. Заболеваемость по коду K29.0 - K29.9 за 5 лет наблюдения составила 1,8±0,2%, из них доля впервые выявленных случаев была – 6,5±1,0%. В структуре заболеваемости превалировал диагноз: гастрит неуточненный (K29.5) – 76,7±4,0%. Жалобами больных, обращавшихся с установленным диагнозом по коду K29.0 - K29.9, были: болевой синдром – 84% случаев, тошнота – 67%, ощущения тяжести в эпигастрии после еды – 63%, изжога – 61%, отрыжка – 58%. Из всех проведенных за год биопсий слизистой желудка в 6,6±0,1% случаев выявлялся некардиальный рак желудка. Выявлена достоверная динамика увеличения доли пациентов в возрасте ≥60 лет с установленным диагнозом гастрит и/или дуоденит, а возраст больных с выявленным некардиальным раком желудка составил 66,4±1,1 лет.

**Заключение**. Гастрит и дуоденит остаются распространенными амбулаторными нозологиями, ассоциированными в клинической практике прежде всего с субъективными симптомами – болевым и диспепсическим.

*Ключевые слова:* гастрит, диспепсия, дуоденит, заболеваемость

# GASTRITIS AND DUODENITIS IN OUTPATIENT PRACTICE AS A REFLECTION OF DYSPEPSIA SYMPTOMS

Zhestkova T.V.[1], Esakova E.M.[2], Efanova L.V.[2], Kryutchenko E.P.[2], Razzhivina E.G.[2]

[1]*Ryazan State Medical University, 9, Vysokovol'tnaja St., 390026, Ryazan, Russia*

[2]*City Clinical Hospital N4, 17, Yesenina St., 390023, Ryazan, Russia*

*Abstract*

**Objective**. To assess the prevalence of gastritis and duodenitis in the structure of the general morbidity of the population geographically attached to the city clinic over 5 years of observation.

**Methods**. Data from the annual reports of the city clinic for 2018-2022 were retrospectively studied. Anonymized complaints were summarized, 100 patients with an established main diagnosis according to ICD-10 code K29.3 – K29.7.

**Results.** The incidence of code K29.0 - K29.9 over five years of observation was 1.8±0.2%, of which the proportion of newly diagnosed cases was 6.5±1.0%. In the structure of morbidity, the diagnosis prevailed: unspecified gastritis (K29.5) - 76.7±4.0%. The complaints of patients treated with the established diagnosis according to code K29.0 - K29.9 were: pain – 84% of cases, nausea – 67%, feeling of heaviness in the epigastrium after eating – 63%, heartburn – 61%, belching – 58%. Of all biopsies of the gastric mucosa performed per year, non-cardiac gastric cancer was detected in 6.6±0.1% of cases. A significant increase in the proportion of patients aged ≥60 years with an established diagnosis of gastritis and/or duodenitis was revealed, and the age of patients with diagnosed non-cardiac gastric cancer was 66.4±1.1 years.

**Conclusions.** Gastritis and duodenitis remain common outpatient nosology, associated in clinical practice primarily with subjective symptoms - pain and dyspeptic symptoms.

*Keywords*: gastritis, dyspepsia, duodenitis, morbidity

## Введение

Гастрит и дуоденит – воспалительные заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта, имеющие различные этиологические причины, и объединенные МКБ-10 в одну группу кодом K29.0 – K29.9. Распространенность хронического гастрита часто связывают с инфекцией Helicobacter pylori, а социально-экономическое бремя заболевания прежде всего ассоциируют с риском его трансформации в аденокарциному желудка [7, 10]. Дуодениты, в основном, имеют хроническое течение, манифестируют болевым синдромом и сочетаются с другой патологией органов пищеварения, в том числе и с Helicobacter pylori-ассоциированным гастритом [8]. Обе нозологии, имея широкую распространенность в популяции, «хорошо знакомы» практикующим специалистам прежде всего по характерным жалобам больных [2]. Однако подобные симптомы присущи и функциональной диспепсии (код МКБ – K30), которая редко устанавливается практикующими врачами в качестве заключительного диагноза, несмотря на имеющиеся клинические рекомендации и многочисленные публикации по этой теме [3]. Современные клинические руководства указывают на обязательность этиологического подхода к ведению пациентов с предполагаемым диагнозом гастрит и дуоденит, что требует дополнительных организационных мероприятий и материальных затрат, с предварительной оценкой уровня обращаемости, динамики заболеваемости, анализом существующей реальной практики ведения пациентов с диспепсическим синдромом.

Цель исследования – оценить и охарактеризовать распространенность гастрита и дуоденита в структуре общей заболеваемости населения, территориально прикрепленного к городской поликлинике за 5 лет наблюдения.

## Методика

Ретроспективно были изучены и статистически обработаны данные годовых отчетов одной городской поликлиники за 2018-2022 гг. по шифру K29.0 – K29.9. В поликлинике на постоянной основе по направлению лечащих врачей проводится эзофагогастродуоденоскопия. В исследование включены данные журнала регистрации эндоскопических обследований и направления на гистологические исследования за тот же период. Для оценки клинических симптомов фиксировались и обобщались обезличенные жалобы, активно обратившихся за медицинской помощью пациентов с установленным диагнозом по шифру K29.3 – K29.7. Сбор жалоб проводился сплошным методом за определенный промежуток времени для достижения 100 случаев обращения, то есть включались жалобы каждого пациента с диагнозом по шифру K29.3 – K29.7 как основного заболевания.

Статистическая обработка материала проведена при помощи пакета программного обеспечения Microsoft Excel 2010, SPSS Statistics 13.0. Данные представлены относительными величинами. Количественный признак представлен средним арифметическим значением выборки (M) и стандартной ошибкой среднего (m). Различия частот переменных анализировали при помощи критерия Пирсона $\chi 2$ с уровнем достоверности при $p<0,05$.

## Результаты исследования

По результатам проведённого исследования выяснилось, что удельный вес зарегистрированных случаев, относящихся к шифру K29.0–K29.9, менялся в пределах 1,4–2,4%. На рисунке видно, что доля зарегистрированных случаев различных нозологических форм гастрита и дуоденита, уменьшилась в 2019 г. на 0,4% ($p<0,001$), что совпало с ростом общей заболеваемости. В последующие годы на фоне пандемии COVID-19 эта тенденция продолжилась, и только в 2022 г. доля случаев по коду K29.0–K29.9 увеличилась с 1,4 до 1,8% ($p<0,001$).

Таким образом, заболеваемость по шифру K29.0 – K29.9 за пять лет наблюдения в среднем составила 1,8±0,2%.

Рис. Динамика зарегистрированных случаев по шифру K29.0 – K29.9 (относительно общей заболеваемости) и процента изменения общей заболеваемости по отношению к заболеваемости в 2018 г. (заболеваемость в год, случаи – заболеваемость в 2018 г, случаи) / заболеваемость в 2018 г., случаи × 100%

Важной характеристикой распространенности любого заболевания является количество впервые выявленных больных. Здесь необходимо отметить, что некоторые диагностические методики были резко ограничены в условиях пандемии COVID-19, в том числе и эндоскопия, что затруднило установление гастродуоденальной патологии. За 5 лет наблюдения доля впервые выявленных заболеваний по отношению ко всем болезням по шифру K29.0 – K29.9 колебалась и в среднем составила 6,5±1,0% (табл. 1). Не было достоверной тенденции к росту или уменьшению впервые выявленных случаев обращения по нозологиям шифра K29.0 – K29.9, так процент изменения за 5 лет наблюдения составил 1,1±1,3%. В то же время сравнивая 2018 и 2022 гг. установлено, что прирост различных форм гастрита и дуоденита, зарегистрированных впервые, достиг 3,8% (p<0,001).

Таблица 1. Доля случаев отдельных нозологических вариантов гастрита и дуоденита, зарегистрированных на амбулаторном приеме за год ко всем случаям по шифру K29.0 – K29.9 (%)

| Вариант гастрита по МКБ-10 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 |
|---|---|---|---|---|---|
| K29.0-K29.9 (впервые выявленный) | 5,6 | 8,3* | 3,9 | 5,2 | 9,4** |
| K29.5 (гастрит неуточненный) | 85,5 | 86,7 | 70,0** | 74,1** | 67,2** |
| K29.9 (гастродуоденит) | 10,8 | 8,5* | 8,5 | 6,2** | 4,0** |
| K29.3 (гастрит поверхностный) | 0,2 | 2,2** | 14,8** | 9,4** | 23,4** |

Примечание: достоверные различия по критерию Пирсона $\chi 2$: * – p<0,01, ** – p<0,001 в сравнении с 2018 г

Соотношение женщин и мужчин, обращавшихся за амбулаторной помощью по поводу различных форм гастрита и дуоденита было почти постоянным: в 2018 и 2019 гг. составило 2/1 (женщины / мужчины), в 2020 и 2021 гг. – 2,2/1, в 2022 г. – 2,3/1, что в сравнении с 2018 г достоверно не отличалось (p=0,08). Таким образом, за 5 лет наблюдения доля «женских» случаев по коду K29.0 – K29.9 было зарегистрировано в 2,2 раза больше, чем обращений мужчин (p=0,003).

Наблюдалась тенденция к изменению соотношения численности пациентов в возрастных группах. Так в сравнении с 2018 г. доля лиц в возрасте 20-39 лет, амбулаторно обратившихся по заболеваниям шифра K29.0–K29.9, достоверно уменьшилась к 2022 г. в 1,6 раза, в то время как

удельный вес количества пациентов в возрасте ≥60 лет увеличился в 1,6 раза (табл. 2). Тенденция к относительному уменьшению числа лиц, зарегистрированных по шифру K29.0–K29.9 в возрасте 40-49 лет была непостоянной.

Установлено, что в нозологической структуре заболеваемости по шифру K29.0–K29.9 превалировали диагнозы: гастрит неуточненный (K29.5) и гастрит поверхностный (K29.3). В 2018 г. на долю этих вариантов гастрита приходилось 85,7%, а в 2022 г. – 90,6% случаев от всех заболеваний по шифру K29.0–K29.9 Достоверное увеличение заболеваемости по шифру K29.3 (поверхностный) связано с более глубоким обследованием обратившихся больных (табл. 1).

Таблица 2. Распределение по возрастным группам случаев, зарегистрированных на амбулаторном приеме за год по шифру K29.0–K29.9 (%)

| Возраст | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 |
|---|---|---|---|---|---|
| 18-19 | 1,3 | 1,0 | 1,5 | 0,6 | 1,2 |
| 20-29 | 14,7 | 11,2** | 9,3*** | 9,4*** | 8,9*** |
| 30-39 | 22,4 | 20,9 | 16,0*** | 15,9*** | 13,8*** |
| 40-49 | 16,8 | 16,2 | 13,5* | 14,8 | 13,6* |
| 50-59 | 15,2 | 14,7 | 16,6 | 14,4 | 15,9 |
| 60-69 | 17,4 | 19,5 | 24,1*** | 23,3*** | 22,9*** |
| 70-79 | 9,0 | 12,1** | 13,6*** | 14,8*** | 16,9*** |
| ≥ 80 | 3,2 | 4,5 | 5,4** | 6,7*** | 6,8*** |

Примечание: достоверные различия по критерию Пирсона $\chi 2$: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$ в сравнении с 2018 г.

Динамика заболеваемости по шифру K29.8–K29.9 (дуоденит и гастродуоденит) имела устойчивую тенденцию к снижению в 2018-2022 гг., соответственно 10,8 и 4,5%, что привело уменьшению доли этой группы пациентов за 5 лет в 2,4 раза ($p<0,001$). Все активно обратившиеся за амбулаторной помощью пациенты предъявляли жалобы диспепсического характера. Болевой синдром отмечен в 84% случаев, тошнота – 67%, ощущения тяжести в эпигастрии после еды – 63%, изжога – 61%, отрыжка – 58%.

Одной из характеристик бремени заболевания являются осложнения его течения и смертность. Согласно современным представлениям развитие аденокарциномы желудка ассоциировано с атрофией его слизистой оболочки в результате хронического воспаления. Установлено, что доля случаев некардиального рака желудка, выявленного в результате гистологического исследования образцов слизистой оболочки желудка, составила 6,6±0,1% в год от всех проведенных биопсий, не имея достоверной динамики в течение 5 лет наблюдения. Мужчин с выявленным раком желудка, было в 1,5 раза больше чем женщин. Средний возраст мужчин составлял 65,0±1,4 лет, женщин – 68,5±1,8 лет.

## Обсуждение результатов исследования

Оценка распространенности гастрита и дуоденита в структуре амбулаторной заболеваемости установила уровень 1,8±0,2% от общего числа случаев, что значительно ниже имеющихся данных по инфицированности Helicobacter pylori в Рязанском регионе 66% и в стране 65-92% [4-8]. Основной причиной обращений пациентов был болевой и диспепсический синдром. Таким образом можно утверждать, что регистрируемая амбулаторная заболеваемость различными формами гастрита и дуоденита ниже чем фактическая распространенность данных нозологий среди населения. Это объясняется отсутствием субъективной симптоматики у большинства пациентов с хроническим воспалением слизистой оболочки желудка [3, 7].

За пятилетний период наблюдения отсутствовала стойкая тенденция к снижению первичной заболеваемости по шифру K29.0-K29.9 (процент изменения составил 27,3±28,6%). Одновременно отмечена достоверная 5-летняя динамика уменьшения числа зарегистрированных дуоденитов на 6,3% ($p<0,001$) и рост обращений по поводу различных форм гастрита, прежде всего хронического поверхностного – на 23,2% ($p<0,001$).

Полученные данные можно трактовать как положительные изменения качества обследования и лечения пациентов. Однако обращает внимание стабильность выявления аденокарциномы желудка (6,6±0,1% от общего количества проведенных биопсий в год) на фоне все еще высокого уровня диагностики неуточненного гастрита, K29.5 (в структуре заболеваемости по шифру K29.0–

K29.9 – 76,7±4,0%). Таким образом, можно утверждать о превалировании в амбулаторной практике симптоматического лечения пациентов, что не согласуется с требованиями клинических рекомендаций по ведению пациентов с гастритом и дуоденитом [6]. Нужно отметить, что диагностика гастрита на основании эндоскопического исследования практикуется и в других странах [9]. Однако, в отсутствии морфологически подтвержденного воспаления слизистой оболочки желудка и/или диагностированного хеликобактериоза, наиболее рационально установить диагноз «диспепсия неуточненная» (K31.9), с последующим плановым обследованием и динамическим наблюдением пациента.

Необходимо дальнейшее изучение ситуации по уменьшению доли пациентов в возрасте 20-39 лет с установленным диагнозом гастрит и/или дуоденит, с одновременным увеличением относительного числа лиц в возрасте ≥60 лет – в 1,6 раза ($p<0,001$). Это может объясняться демографическими причинами, доступностью лекарственных препаратов и возможностью самолечения, более регулярным использованием противовоспалительных препаратов в старших возрастных группах и т.п.

Вопросы профилактики рака желудка особенно актуальны, учитывая лидирующие позиции заболеваний органов пищеварения в структуре причин смерти населения [1]. Таким образом, принимая во внимание средний возраст пациентов, с выявленной в ходе гистологического исследования аденокарциномой желудка (66,4±1,1 лет), целесообразно включение эндоскопического обследования в план диспансеризации лиц в возрасте ≥60 лет.

## Заключение

Гастрит и дуоденит остаются распространенными амбулаторными нозологиями, ассоциированными в клинической практике прежде всего с субъективными симптомами - болевым и диспепсическим. Необходимо расширение диагностических исследований с этиологической направленностью для выявления хронического гастрита еще на этапе профилактических осмотров.

## Литература (references)


1. Андрейкин А.Б., Ануфриев А.Г. Анализ структуры и причин смерти в Смоленской области по материалам бюро судебно-медицинской экспертизы // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.21, №2. – С. 35-41. [Andrejkin A.B., Anufriev A.G. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2022. – V.21, N2. – P. 35-41. (in Russian)]
2. Бакулина Н.В., Оганезова И.А., Топалова Ю.Г. и др. Гастрит и диспепсия: два имени одной проблемы? Отношение преобладающих симптомов к синдромальной характеристике пациента с заболеваниями верхних отделов ЖКТ: результаты опроса врачей-терапевтов // Медицинский совет. – 2021. – №15. – С. 30-39. [Bakulina N.V., Oganezova I.A., Topalova Ju.G. i dr. *Medicinskij sovet.* Medical Council. – 2021. – N15. – P. 30-39. (in Russian)]
3. Бакулина Н.В., Тихонов С.В., Лищук Н.Б. Хронический гастрит и функциональная диспепсия. Единство и борьба двух противоположностей // Медицинский совет. – 2021. – №15. – С. 164-174. [Bakulina N.V., Tihonov S.V., Lishhuk N.B. *Medicinskij sovet.* Medical Council. – 2021. – N15. – P. 164-174. (in Russian)]
4. Войтенкова О.В., Легонькова Т.И., Степина Т.Г. и др. Факторы риска развития поражений пищеварительной системы у детей, страдающих бронхиальной астмой // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т.15, №4. – С. 43-50. [Vojtenkova O.V., Legon'kova T.I., Stepina T.G. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2016. – V.15, N4. – P. 43-50. (in Russian)]
5. Жесткова Т.В., Бутов М.А., Лымарь Ю.Ю. и др. Распространенность инфекции Helicobacter pylori среди жителей Рязанского региона // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2019. – Т.27, №1. – С. 35-40. [Zhestkova T.V., Butov M.A., Lymar' Ju.Ju. i dr. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova.* I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. – 2019. – V.27, N1. – P. 35-40. (in Russian)]
6. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л., Маев И.В. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека, Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний,

Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии по диагностике и лечению H. pylori у взрослых // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т.32, №6. – С. 72-93. [Ivashkin V.T., Lapina T.L., Maev I.V. i dr. *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii*. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. – 2022. – V.32, N6. – P. 72-93. (in Russian)]

7. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации «Эндоскопическое общество РЭНДО» по диагностике и лечению гастрита, дуоденита // Российский журнал г астроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2021. – Т.31, №4. – С. 70-99. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L. i dr. *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. – 2021. – V.31, N.4. – P. 70-99. (in Russian)]
8. Самсонов А.А., Андреев Д.Н., Шестаков В.А. Хронический дуоденит как актуальная проблема патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта: вопросы классификации и лечения // Фарматека. – 2016. – №18. – С. 6-15. [Samsonov A.A., Andreev D.N., Shestakov V.A. *Farmateka.* Farmateka. – 2016. – N18. – P. 6-15. (in Russian)]
9. Dhungana D., Regmi Y.N. Prevalence of Gastritis in a Tertiary Care Centre: A Descriptive Cross-sectional Study // Journal of Nepal Medical Association. – 2021. – V.59, N234. – P. 120-123.
10. Yin Y., Liang H., Wei N. et al. Prevalence of chronic atrophic gastritis worldwide from 2010 to 2020: an updated systematic review and meta-analysis // Annals of Palliative Medicine. – 2022. – V.11, N12. – P. 3697-3703.

**Информация об авторах**

*Жесткова Татьяна Васильевна* – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России. E-mail: t-zhestkova@bk.ru

*Есакова Евгения Михайловна* – главный врач ГБУ РО «Городская клиническая больница №4». E-mail: gkb4@ryazan.gov.ru

*Ефанова Лариса Викторовна* – врач-статистик ГБУ РО «Городская клиническая больница №4». E-mail: gkb4statistika@yandex.ru

*Крютченко Елена Петровна* – врач-гастроэнтеролог ГБУ РО «Городская клиническая больница №4». E-mail: elena-k9@yandex.ru

*Разживина Елена Гурьевна* – врач-эндоскопист ГБУ РО «Городская клиническая больница №4». E-mail: helen_raz@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.12-008.331.1-053.7-085-037:575.1* 3.1.18 Внутренние болезни

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.12 EDN: MAMIKD*

# ДИНАМИКА ЖЕЛУДОЧКОВЫХ НАРУШЕНИЙ РИТМА НА ФОНЕ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ

**© Игнатенко Г.А., Мухин И.В., Сочилин А.В.**

*Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, Россия, 283003, Донецкая Народная Республика, Донецк, пр. Ильича, 16*

*Резюме*

**Цель**. Проанализировать влияние двух реабилитационных программ на динамику желудочковых нарушений ритма у гипертензивных больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) пылевой этиологии.

**Методика**. В исследование включено 108 гипертензивных пациентов (все мужчины) пылевой ХОБЛ. Методом случайной выборки они были распределены в 2 сопоставимые группы наблюдения. Пациенты группы 1 получали только базовый реабилитационный кардио-респираторный комплекс, а представители группы 2 дополнительно ежедневные сеансы интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНБГТ) в течение 15 дней. Для количественного анализа желудочковых нарушений ритма проводили суточное мониторирование ЭКГ. Для проведения 15-ти дневных сеансов ИНБГТ использовали гипоксикатор «Био-Нова 204AF» (научно-техническое объединение «Био-Нова», Россия). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы «Statistica 6.0».

**Результаты**. Суммарная частота желудочковых нарушений ритма при исходном мониторировании ЭКГ в группе 1 составила 63,6%, в группе 2 – 62,3% соотвественно ($p>0,05$). Первое место в группах больных по частоте занял класс 1 по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (43,6 и 43,4% соотвественно, $p>0,05$). Второе место по частоте занял класс 2 (20,0 и 18,9% соотвественно, $p>0,05$). Под влиянием двух реабилитационных программ у больных с классом 1 отмечена тенденция увеличения на 1,9% ($p>0,05$) в 1-ой группе и, напротив, снижение на 7,6% во 2-ой ($p<0,05$). На этапе 2 различия частоты класса 1 между группами больных составили 9,7%. Исходная частота класса 2 равнялась 20,0 и 18,9% соотвественно ($p>0,05$). В группе 1 имела место тенденция снижения частоты класса 2 на 1,8% ($p>0,05$), а в группе 2, достоверное уменьшение на 5,7% ($p<0,05$) по сравнению и сходными значениями. Различия между группами на этапе 2 составили 5,0%.

**Заключение**. Средняя частота желудочковых нарушений ритма классов 1 и 2 у гипертензивных больных пылевой ХОБЛ составила 63%. Традиционные реабилитационные мероприятий не оказывали значимого влияния на частоту желудочковых аритмий. Реабилитационная программа с ИНБГТ позволила достоверно снизить частоту класса 1 и 2 у больных сочетанной гипертензивно-респираторной патологией без дополнительного использования антиаритмических препаратов.

*Ключевые слова*: желудочковые нарушения ритма, динамика, гипертензивные пациенты пылевой ХОБЛ, реабилитация.

# DYNAMICS OF VENTRICULAR RHYTHM DISORDERS DURING REHABILITATION MEASURES IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE OF DUST ETIOLOGY

Ignatenko G.A., Mukhin I.V., Sochilin A.V.

*Donetsk State Medical University named after M. Gorky, DPR, Ilyich Ave., 16, 83003, Donetsk, Russia*

*Abstract*

**Objective**. To analyze the influence of two rehabilitation programs on the dynamics of ventricular arrhythmias in hypertensive patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) of dust etiology.

**Methods**. The study included 108 hypertensive patients (all men) with dust COPD. Using a random sampling method, they were distributed into 2 comparable observation groups. Patients of group 1 received only a basic rehabilitation cardio-respiratory complex, and representatives of group 2 additionally received daily sessions of interval normobaric hypoxic therapy (INBHT) for 15 days. For quantitative analysis of ventricular arrhythmias, 24-hour ECG monitoring was performed. To conduct 15-day sessions of INBGT, a hypoxicator "Bio-Nova 204AF" (scientific and technical association "Bio-Nova", Russia) was used. Statistical processing of the results was carried out using the Statistica 6.0 program.

**Results**. The total frequency of ventricular arrhythmias during initial ECG monitoring in group 1 was 63.6%, in group 2 – 62.3%, respectively ($p>0.05$). The first place in the groups of patients in terms of frequency was taken by class 1 according to Lown-Wolf as modified by Ryan M. (43.6 and 43.4%, respectively, $p>0.05$). The second place in frequency was taken by class 2 (20.0 and 18.9%, respectively, $p>0.05$). Under the influence of two rehabilitation programs in patients with class 1, there was a tendency to increase by 1.9% ($p>0.05$) in group 1 and, on the contrary, decrease by 7.6% in group 2 ($p<0.05$). At stage 2, the difference in class 1 frequency between patient groups was 9.7%. The initial incidence of class 2 was 20.0 and 18.9%, respectively ($p>0.05$). In group 1, there was a tendency to reduce the frequency of class 2 by 1.8% ($p>0.05$), and in group 2, a significant decrease by 5.7% ($p<0.05$) compared with similar values. The difference between groups at stage 2 was 5.0%.

**Conclusion**. The average incidence of ventricular arrhythmias of classes 1 and 2 in hypertensive patients with dust COPD was 63%. Traditional rehabilitation measures did not have a significant effect on the incidence of ventricular arrhythmias. The rehabilitation program with INBHT made it possible to significantly reduce the incidence of class 1 and 2 in patients with combined hypertensive-respiratory pathology without the additional use of antiarrhythmic drugs.

*Keywords*: ventricular arrhythmias, dynamics, hypertensive patients, dust COPD, rehabilitation

## Введение

У горнорабочих угольных шахт артериальная гипертензия (АГ) является самым частым патогенетически взаимосвязанным заболеванием с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) пылевой этиологии [3]. Нарушения сердечного ритма является частой составляющей кардио-респираторной общности [7]. Известно, что при нетяжелом течении ХОБЛ без признаков выраженной дыхательной недостаточности, частота суправентрикулярных нарушений ритма (синусовой тахикардии, суправентрикулярной экстрасистолии, фибрилляции предсердий, пароксизмальной наджелудочковой тахикардии) нередко достигает 80%. В большей степени их появление ассоциируется с рефлекторным механизмом, в меньшей степени - гипоксией, симпатической гиперактивностью, чрезмерным или неконтролируемым приемом бета-2 агонистов (в том числе с низкой селективностью), присутствием дополнительных пучков проведения и пр. Фармакологическая коррекция таких видов аритмий при ХОБЛ ограничивается коррекцией респираторной недостаточности и бронхолитической терапии, назначением бета-адреноблокаторов, блокаторов медленных кальциевых каналов группы верапамила либо дилтиазема, реже, для ритмоурежения – ивабрадина.

Желудочковые нарушения ритма, напротив, встречаются не только значительно реже, только у 40-60% больных, но и зачастую протекают совокупно с наджелудочковыми нарушениями ритма [8]. Среди желудочковых нарушений ритма наиболее жизнеопасными с точки зрения риска фибрилляции желудочков и внезапной аритмической смерти, являются пароксизмы желудочковой тахикардии, парные, групповые либо ранние экстрасистолы типа R на T [11]. Желудочковые нарушения ритма нередко являются состояниями, лимитирующие проведение оптимальных режимов реабилитации у больных ХОБЛ [1]. Стандартные реабилитационные программы преимущественно нацелены на уменьшении выраженности бронхиальной обструкции, развитие и пролонгацию ремиссионного периода. Нередко реабилитационный комплекс является фактором усугубления аритмического синдрома, в связи, с чем многие из них считаются противопоказанными. В связи с этим, поиск новых универсальных реабилитационных направлений лежит в плоскости одновременного реабилитационного воздействия на механизмы бронхообструктивного и гипертензивного синдромов с позиции аритмической безопасности.

В последние годы в реабилитационных программах при сочетанной кардио-респираторной патологии получила распространение интервальная нормобарическая гипокситерапия (ИНБГТ), обладающая комплексом синергичных механизмов, оказывающих благоприятное воздействие на функционирование кардио-респираторной системы [4].

Цель исследования заключалась в анализе влияния двух реабилитационных программ на динамику желудочковых нарушений ритма у гипертензивных больных ХОБЛ пылевой этиологии.

## Методика

Пациенты, включенные в данный проект, были ознакомлены с целью, дизайном и этапами исследования. Они получили исчерпывающие ответы на заданные вопросы и добровольно подписали информированное согласие. В исследование включено 108 гипертензивных пациентов (все мужчины) пылевой ХОБЛ. Критериями включения в исследование были АГ 1-2 стадии и 1-3 степени, ХОБЛ пылевой этиологии 2 стадии в периоде затихающего обострения либо начинающейся ремиссии, подземный стаж превышающий 10 лет, желудочковые нарушения ритма 1-2 классов по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (1971).

Критерии исключения: 3-5 классы желудочковых нарушений сердечного ритма по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (1971), не пылевая этиология ХОБЛ, период обострения респираторной патологии, гнойный характер мокроты, лихорадка, необходимость в назначении антибактериальный средств, тяжелый бронхообструктивный синдром, требующий использования парентеральных кортикостероидов, неэффективность ингаляционных бронхолитиков, выраженная вентиляционная недостаточность, тяжелая легочная гипертензия, АГ 3 стадии, медикаментозно не контролируемая АГ.

Нами были введены сознательные ограничения, исключающие участие в исследовании пациентов с 3-5 классами желудочковых нарушений ритма, поскольку возможность проведения любых реабилитационных мероприятий является противопоказанным.

Методом случайной выборки больные были распределены в 2 сопоставимые группы наблюдения, статистически однородные по полу (все мужчины), возрасту (t=0,29, p=0,61), длительности и тяжести ХОБЛ (t=0,77, p=0,18 и $\chi^2$=0,39, p=0,30 соответственно), стадии ($\chi^2$=0,28, p=0,61) и степени АГ ($\chi^2$=0,20, p=0,67), классам желудочковых нарушений ритма ($\chi^2$=0,14, p=0,71) и степени дыхательной недостаточности ($\chi^2$=0,09, p=0,83). Характеристика больных и здоровых представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика больных и здоровых

| Характеристика | Группы больных | | Здоровые (n=40) |
|---|---|---|---|
| | 1-я (n=55) | 2-я (n=53) | |
| Средний возраст больных/здоровых на момент включения в исследование (M±m, годы) | 48,8±0,50 | 48,5±0,28 | 48,2±0,17 |
| Возраст в дебюте ХОБЛ, (M±m, годы) | 42,5±0,31 | 42,1±0,25 | |
| Продолжительность ХОБЛ, (M±m, годы) | 5,9±0,32 | 6,0±0,14 | |
| Возраст в начале АГ, (M±m, годы) | 38,9±0,17 | 39,0±0,24 | |
| Стадия АГ (абс. (%)):<br>- 1<br>- 2 | <br>12 (21,8 %)<br>43 (78,2 %) | <br>11 (20,7 %)<br>42 (79,2 %) | |
| Степень АГ (абс. (%)):<br>- 1<br>- 2<br>- 3 | <br>10 (18,2 %)<br>42 (76,3 %)<br>3 (5,5 %) | <br>9 (16,9 %)<br>42 (79,2 %)<br>2 (3,8 %) | |
| Длительность АГ, (M±m, годы) | 9,8±0,16 | 10,0±0,09 | |
| Степень дыхательной недостаточности:<br>- I<br>- II | <br>16(29,1 %)<br>39(70,9 %) | <br>15(28,3 %)<br>38(71,7 %) | |

Как следует из таблицы, средний возраст пациентов в группах наблюдения составил 48,8±0,50 и 48,5±0,2 лет соотвественно (p>0,05). Возраст появления/выявления пылевой ХОБЛ в группах больных равнялся 42,5±0,31 и 42,1±0,25 года соотвественно (p>0,05). Дебют АГ по времени опережал сроки появления пылевой ХОБЛ. У больных доминировали клинические проявлений 2 степени АГ (у 76,3 и 79,2% соотвественно, p>0,05) и 2-я стадия дыхательной недостаточности (у 70,9 и 71,7% больных соотвественно, p>0,05).

Пациенты группы 1 получали только базовый реабилитационный кардио-респираторный комплекс, а представители группы 2 дополнительно ежедневные сеансы ИНБГТ. Группа контроля включала 40 практически здоровых мужчин аналогичного возраста. Базовая терапия включала бронхолитик продленного действия, в ряде случаев – ингаляционный кортикостероид, а также ингибитор АПФ либо в случае усиления кашля – блокатор рецепторов ангиотензина 2, антагонист кальциевых каналов, бета-адреноблокатор либо ивабрадин при тахикардиальном синдроме.

Исследование функции внешнего дыхания проводили при помощи пульмонологического комплекса «Master Lab Pro», «Jaeger», Германия. Суточное мониторирование ЭКГ проводили при помощи кардиомонитора «Кардиотехника» – 04-АД-3(М), «Incart», Россия.

Для выполнения сеансов ИНБГТ использовали гипоксикатор «Био-Нова 204AF» (научно-техническое объединение «Био-Нова», Россия). Перед началом лечебных сеансов гипокситерапии проводили пробу Штанге, по результатам которой определяли продолжительность компонентов гипоксического цикла, а именно, продолжительность дыхания гипоксической смесью, обедненной кислородом (в маске) и дыхания атмосферным воздухом (без маски). Так, при задержке дыхания в пробе Штанге до 10 секунд время одного гипоксического цикла составляло 2 минуты, от 10 до 20 секунд – 3 минуты, от 20 до 30 секунд – 4 минуты, более 30 секунд продолжительность гипоксического цикла составляла 5 минут. В дальнейшем выполняли трехступенчатый гипоксический тест с целью определения индивидуальной переносимости гипоксии. Он включал дыхание гипоксической смесью в течение 5-ти минут с 16% насыщением кислорода на первой ступени, затем с 14% насыщением кислородом на второй, а при удовлетворительной переносимости (у больных с сатурацией кислорода более 86%) – с 12% кислорода на третьей ступени. Целевая сатурация кислорода в период вдыхания гипоксической смеси в маске колебалась от 85% до 80%, что являлось целевым уровнем и подтверждало оптимальность выбора продолжительности компонентов гипоксического цикла. В период нормоксии (дыхание атмосферным воздухом без маски), сатурация снова возрастала до исходных значений. Своеобразные «качели» чередования сатурации кислорода от 80-85% (в масочный период) до 95-100% (в период дыхания атмосферным воздухом) и, соответственно, состояние управляемой гипоксии и нормоксии, и обуславливают возникновение в течение первых сеансов ИНБГТ появление транзиторной реакции на гипоксию в виде избыточного понижения артериального давления (АД), появления либо усиления исходной тахикардии, появления потливости, легкого головокружения. В дальнейшем, по мере формирования долгосрочных адаптационных механизмов, возникает центральная и периферическая вазодилатация, продолжительное понижение АД, снижается частота сердечного ритма до исходной.

Базовая реабилитационная программа, применяемая у представителей обоих групп, включала комплекс индивидуально подобранных процедур. Так, при избыточной возбудимости, дизсомническом синдроме, исходной тахикардии, треморе назначали электросон (по глазнично-сосцевидной методике, с частотой от 5 до 20 Гц в начале и до 60-80 Гц в конце курса, пороговой силой тока, экспозицией от 20 до 40 минут ежедневно или через день, на курс 15-20 процедур) и/или магнитотерапию, электрофлорез с растворами транквилизаторов [2] на задне-шейную и воротниковую область. При гиперкинетическом типе кровообращения и выраженном периферическом сосудистом спазме дополнительно выполняли ежедневный электрофорез с сульфатом магния на межлопаточную область с плотностью гальванического тока до 0,05 мА/см$^2$ и экспозицией 20 минут №10 [5]. Всем больным в индивидуальном порядке назначали лечебную гимнастику, занятия на тренажерах, дозированную ходьбу, рефлексотерапию, массаж головы, шеи, воротниковой и предсердечной области, грудного отдела позвоночника [6]. Динамику респираторного и гипертензивного синдрома оценивали через 15 дней от момента старта восстановительной программы.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на персональном компьютере с использованием программы «Statistica 6.0». Проверку на нормальность распределения проводили при помощи метода Шапиро-Вилка. Распределение признака в выборке подчинялось закону нормального распределения, в связи, с чем для проверки статистических гипотез использовали критерий Стьюдента. При сравнении двух независимых выборок, использовали t-критерий Стьюдента для непарных (независимых, несвязанных) выборок. Сравнение качественных показателей проводили при помощи непараметрического метода статистического анализа – $\chi^2$ (Хи-квадрат). При уровне значимости 5% (уровне доверия 95%) считали наличие либо отсутствие оснований отвергнуть нулевую гипотезу в пользу альтернативы. За уровень значимости (p) принимали величину $p<0,05$. Некоторые показатели представлены в таблице в виде M±m, где M – среднее значение, а m – ошибка среднего значения. Цифровые табличные данные представлены в виде абсолютных значений и их % по отношению к численности больных в каждой группе.

## Результаты исследования и их обсуждение

Суммарная частота желудочковых нарушений ритма в группе 1 при исходном мониторировании ЭКГ составила 63,6%, в группе 2 – 62,3% соотвественно (p>0,05), а средняя в обеих группах – 63%. Как показали результаты нашего исследования, доминирующая частота нарушений ритма относилась к классу 1 – 43,6 и 43,4% соотвественно (p>0,05), т.е. встречалась у каждого 2-3 пациента (табл. 2).

Таблица 2. Динамика частоты классов нарушений ритма по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (1971) по результатам суточного кардиомониторирования на фоне реабилитационных мероприятий у гипертензивных больных пылевой ХОБЛ

| Классы | Этапы обследования | Группы больных | |
|---|---|---|---|
| | | 1-я (n = 55) | 2-я (n = 53) |
| 1 | 1 | 24(43,6%) | 23(43,4%) |
| | 2 | 25(45,5%) | 19(35,8%)[12] |
| 2 | 1 | 11(20,0%) | 10(18,9%) |
| | 2 | 10(18,2%) | 7(13,2%)[12] |

Примечания: [1]Этапы обследования: 1 – до лечения, 2 – через 15 дней; 2.[1] – различия между аналогичными показателями на этапах 1 и 2 статистически достоверны; [2] – различия между аналогичными показателями в группе 1 и 2 статистически достоверны

Второе место по частоте занимал класс 2 (20,0 и 18,9% соотвественно, p>0,05), т.е. встречался у каждого 4-го пациента. В динамике реабилитации у больных относящихся к классу 1, отмечена тенденция увеличения на 1,9% (p>0,05) в 1-й группе и, напротив, снижение на 7,6% во 2-й группе (p<0,05). На этапе 2 различия частоты 1 класса нарушений ритма между группами больных составили 9,7% в виду доминирования класса 1.

Исходная частота класса 2 в группах наблюдения равнялась 20,0 и 18,9% соотвественно (p>0,05). Если в группе 1 в динамике реабилитации имела место тенденция снижения частоты класса 2 на 1,8% (p>0,05), то в группе 2, достоверное уменьшение на 5,7% (p<0,05) по сравнению и сходными значениями. Различия между группами на этапе 2 равнялись 5,0%.

Генез желудочковых нарушений ритма у гипертензивных больных пылевой ХОБЛ представлен тремя патогенетическими механизмами – усиленным автоматизмом, механизмом ри-энтри и избыточной триггерной активностью [9]. Появление ранее отсутствовавшего участка деполяризации в желудочках называется усиленным автоматизмом [10]. Наиболее частыми причинами его развития у больных ХОБЛ могут быть гипоксия как следствие прогрессирования дыхательной недостаточности и ишемия тканей миокарда в результате гипертензивного и атероматозного ремоделирования коронарных артерий. Формирование гипертрофии левого и правого желудочков может рассматриваться в качестве одного из возможных механизмов ишемии, обусловленной развитием относительного дефицита кровотока миокарда за счет утолщения стенки при отсутствии достаточно развитой капиллярной сети. Механизм ри-энтри возможен в случае существования границы здорового, не измененного миокарда и ишемизированной ткани, а также при наличии гипертрофии левого (по причине гипертензивного синдрома) либо правого желудочков (по причине формирования хронического легочного сердца) [7].

Классическими причинами возникновения/усиления желудочковых нарушений ритма у больных ХОБЛ могут являться прогрессирующая дыхательная недостаточность, декомпенсированное хроническое легочное сердце, вторичная легочная гипертензия, тромбоз мелких ветвей легочной артерии in situ [8].

У больных ХОБЛ по мере утяжеления дыхательной недостаточности, наблюдается активация автоматизма синусового узла и отсутствует физиологическое урежение частоты сердечных сокращений в ночные часы [3]. Также возможно возникновение сердечных аритмий во время периодов ночной гипоксемии.

К основным причинам возникновения желудочковых аритмий при бронхиальной обструкции традиционно относят прогрессирующую (нарастающую) гипоксию и связанную с ней гипоксемию. Последняя, индуцирует обратимые нарушение реполяризации и неоднородность электрической активности миокарда, проявляющиеся как снижением вольтажа основных зубцов желудочкового комплекса, так и уплощением, сглаженностью и даже слабым негативизмом зубца Т [10].

Гипоксия при ХОБЛ, как основная причина возникновения аритмических проявлений, индуцирует электрическую неоднородность миокарда. В условиях гипоксии и гипоксемии по мере прогрессирования дыхательной недостаточности происходит последовательное изменение метаболических процессов: начальная умеренная компенсаторная гипервентиляция, сопровождающаяся дыхательным алкалозом, сменяется с течением времени дыхательной недостаточностью с повышением парциального давления углекислого газа и развитием дыхательного ацидоза, который самостоятельно может индуцировать развитие сердечных аритмий [1]. При дыхательном алкалозе у больных ХОБЛ внеклеточный калий в избытке транспортируется в клетку, а и его концентрация в плазме понижается. Это увеличивает мембранный потенциал покоя кардиомиоцитов, длительность потенциала действия и рефрактерного периода, следствием чего является возникновение механизма ри-энтри [7]. Риск гипокалиемии повышается при одновременном применении кортикостероидов, адреналина как средств купирования бронхиальной обструкции, калийсберегающих диуретиков при гипертензивном синдроме либо хроническом легочном сердце, что дополнительно понижает порог индукции аритмического синдрома.

Появление тахикардии, как при выполнении гипоксического теста, так и в процессе первых лечебных сеансов ИНБГТ обусловлено компенсаторным «гипоксическим» учащением ритма, как физиологической реакцией кардио-респираторной системы на понижение парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе. В последующем, в процессе формирования устойчивой адаптации к чередующимся управляемым эпизодам гипоксии и нормоксии при проведении ИНБГТ, частота ритма постепенно замедляется, нередко, до исходных либо физиологических значений [4, 6]. В основе этого феномена лежит комплекс адаптационных реакций, приводящий к преобладанию активности парасимпатической нервной системы, что позволяет достичь симпатико-парасимпатического баланса.

Механизм воздействия бета-2 агонистов связан со стимуляцией бета-2 адренорецепторов, которые локализуются в проводящей системе и миокарде предсердий и желудочков. Препараты этой группы считаются высокоселективными, но только в стандартных фармакопейных дозах, а их селективность снижается пропорционально превышения дозы. При этом увеличивается частота сердечных сокращений, появляются суправентрикулярные и/или желудочковые нарушения ритма, укорачивается диастола, ухудшается диастолическое наполнение желудочков, возникает ритм-зависимая ишемия [11].

## Выводы

1. Средняя частота желудочковых нарушений ритма классов 1 и 2 по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (1971) у гипертензивных больных ХОБЛ составляет 63%.
2. Общепринятые направления реабилитации у гипертензивных больных ХОБЛ пылевой этиологии не оказывают значимого воздействия на частоту желудочковых нарушений ритма.
3. Желудочковые нарушения ритма классов 1 и 2 по Lown-Wolf в модификации Ryan M. (1971) не могут расцениваться в качестве состояний, ограничивающих проведение комплексной кардио-респираторной реабилитации и гипокситерапии.
4. Гипокситерапия как компонент комплексной реабилитационной программы позволяет достоверно снизить частоту класса 1 и 2 у больных сочетанной гипертензивно-респираторной патологией без дополнительного использования антиаритмических препаратов.

## Литература (references)

1. Акрамова Э.Г. Характеристика нарушений ритма у больных хронической обструктивной болезнью легких // Клиническая медицина. – 2013. – №2. – С. 41-44. [Akramova E.G. *Klinicheskaya medicina*. Clinical Medicine. – 2013. – N. 2. – P. 41-44. (in Russian)]
2. Артемова Л.В., Суворов В.Г. Влияние лечебно-реабилитационных программ на клинико-функциональные показатели профессиональной обструктивной болезни легких // Медицина труда и промышленная экология. – 2020. – №4. – С. 29-35. [Artemova L.V., Suvorov V.G. *Medicina truda i promyshlennaya ekologiya*. Occupational Medicine and Industrial Ecology. – 2020. – N4. – P. 29-35. (in Russian)]

3. Будневский А.В., Малыш Е.Ю. Клинико-патогенетические взаимосвязи сердечно-сосудистых заболеваний и хронической обструктивной болезни легких // Кардиология. – 2017. – №4. – С.89-93. [Budnevsky A.V., Malysh E.Yu. *Kardiologiya*. Cardiology. – 2017. – N4. – P.89-93. (in Russian)]
4. Глазачев О.С., Лямина Н.П., Спирина Г.К. Интервальное гипоксическое кондиционирование: опыт и перспективы применения в программах кардиореабилитации // Российский кардиологический журнал. – 2021. – №26(5). – С. 156-162. [Glazachev O.S., Lyamina N.P., Spirina G.K. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*. Russian Journal of Cardiology. – 2021. – N26(5). – P. 156-162. (in Russian)]
5. Вязова А.В. Стратегия физиотерапии в санаторном лечении хронической обструктивной болезни легких с коморбидными состояниями // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – №6-2(108). – С. 92-97. [Vyazova A.V. *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*. International Scientific Research Journal. – 2021. – N6-2(108). – P. 92-97. (in Russian)]
6. Севостьянова Е.В., Николаев Ю.А., Богданкевич Н.В., Лушева В.Г., Маркова Е.Н., Долгова Н.А. Немедикаментозная реабилитация больных хронической обструктивной болезнью легких с артериальной гипертонией // Терапевтический архив. – 2016. – №88(8). – С.19-24. [Sevostyanova E.V., Nikolaev Yu.A., Bogdankevich N.V., Lusheva V.G., Markova E.N., Dolgova N.A. *Terapevticheskij arhiv*. Therapeutic archive. – 2016. – No.88(8). –P.19-24. (in Russian)]
7. Филатова Ю.И, Перфильева М.В., Чернов А.В. Особенности распространенности и структура аритмий у больных хронической обструктивной болезнью легких // Молодой ученый. – 2014. – №5(64). – С. 160-164. [Filatova Yu.I., Perfileva M.V., Chernov A.V. *Molodoj uchenyj*. Young scientist. – 2014. – N.5(64). – P. 160-164. (in Russian)]
8. Hawkins N.M. Chronic obstructive pulmonary disease and ventricular arrhythmia-Association or causation? // Heart Rhythm. – 2018. – V.15(6). – P. 839-840. doi: 10.1016/j.hrthm.2017.10.018.
9. Konecny T., Somers K.R., Park J.Y., John A., Orban M., Doshi R., Scanlon P.D., Asirvatham S.J., Rihal C.S., Brady P.A. Chronic obstructive pulmonary disease as a risk factor for ventricular arrhythmias independent of left ventricular function // Heart Rhythm. – 2018. – V.15(6). – P. 832-838.
10. Uğuz F.A., Bozkuş F., Aksu E., Atilla N., Kahraman H., Doğaner A. Altered Cardiac Repolarization in Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Turkish Thoracic Journal. – 2022. – V.23(2). – P. 97-103.
11. van den Berg M.E., Stricker B.H., Brusselle G.G., Lahousse L. Chronic obstructive pulmonary disease and sudden cardiac death: A systematic review // Trends in Cardiovascular Medicine. – 2016. – V.26(7). – P. 606-613.

**Информация об авторах**

*Игнатенко Григорий Анатольевич* – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАМН, ректор ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России.

*Мухин Игорь Витальевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней №4 ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России. E-mail: zambezi29@mail.ru

*Сочилин Артем Викторович* – ассистент кафедры внутренних болезней №4 ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России. E-mail: xapekb@yandex.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.12-009.3:616.379-008.61* 3.1.18 Внутренние болезни

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.13 EDN: MBXDRZ*

# КОРРЕКЦИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ МИОКАРДА ПРИ ЖЕЛУДОЧКОВЫХ НАРУШЕНИЯХ РИТМА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

**© Мухин И.В., Зубрицкий К.С., Миминошвили В.Р.**

*Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, Россия, 283003, Донецкая Народная Республика, Донецк, пр. Ильича, 16*

*Резюме*

**Цель**. Заключалась в выборе тактики коррекции электрической нестабильности миокарда и анализе факторов, оказывающих влияние на прогноз при желудочковых нарушений ритма у больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа).

**Методика**. В исследование включено 133 пациента СД 2-го типа с желудочковыми нарушениями ритма, которые классифицировали по Lown B. и Wolf M. (1971). Пациенты рандомизированы в 3 группы наблюдения. Весь период исследования был подразделен на 3 этапа. Пациенты 1-й группы (n=44) получали амиодарон и бета-адреноблокатор (БАБ). Представители 2-й группы (n=45) получали такое же лечение, но в сочетании с мельдонием. Представители 3-й группы (n=44) получали лечение амиодароном, БАБ, триметазидином. Всем больным выполняли ЭКГ, суточное кардиомониторирование, эхокардиографию.

**Результаты**. Частота классов желудочковых нарушений ритма среди обследованных пациентов была разной. Так, частота класса III равнялась 54,9%, IVA класса – 26,3%, IVB класса – 11,3%, V класса – 7,5%. Потенциальными причинами электрической нестабильности миокарда являются гипогликемии, постпрандиальные гипергликемические «пики», безболевая ишемия миокарда, постинфарктные кардиослеротические изменения, гипертрофия левого желудочка, диастолическая дисфункция левого желудочка, инсулинрезистентность, гиперинсулинемия. В группе 1 динамика частоты класса III характеризовалась достоверным снижением от этапа к этапу. В группе 2 частота этого же класса также снижалась, однако, если между этапами 1 и 2 в виде тенденции, то между этапами 2 и 3 в виде статистически достоверного уменьшения. В группе 3, напротив, отмечена достоверная разница между этапами и, в отличие от групп 1 и 2, в этой группе происходило не уменьшение частоты, а, напротив, ее увеличение. Частота класса 4А в группе 1 и 2 не менялась, в то время как в группе 3 она имела значимое уменьшение как по сравнению с исходными, так и промежуточными значениями. Частота классов 4В и 5 во всех группах не изменялась.

**Заключение**. У больных СД 2 типа с желудочковыми нарушениями ритма частота класса III составила 54,9%, IVA класса – 26,3%, IVB класса – 11,3%, V класса – 7,5%. Потенциальными причинами возникновения/поддержания желудочковых нарушений ритма являются: гипогликемии, постпрандиальные гипергликемические «пики», безболевая ишемия миокарда, гипертрофия левого желудочка, постинфарктные рубцовые изменения, диастолическая дисфункция левого желудочка, инсулинрезистентность и гиперинсулинемия. Триметазидин как компонент комплексной противоаритмической терапии позволил достоверно более эффективно уменьшать частоту классов 3 и 4А, причем антиаритмический эффект увеличивался при длительном приеме препарата. Кардиопротекторы как компоненты комплексной противоаритмической программы, не оказывали статистически значимого влияния на частоту желудочковых нарушений ритма высоких градаций.

*Ключевые слова*: электрическая нестабильность миокарда, желудочковые нарушения ритма, сахарный диабет 2 типа

# CORRECTION OF MYOCARDIAL ELECTRICAL INSTABILITY IN VENTRICULAR RHYTHM DISORDERS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Mukhin I.V., Zubritsky K.S., Miminoshvili V.R.

*Donetsk State Medical University named after M. Gorky, 16, Ilyich Ave., 83003, Donetsk, DPR, Russia*

*Abstract*

**Objective.** The choice of tactics for correcting electrical instability of the myocardium and analysis of factors influencing the prognosis of ventricular arrhythmias in patients with type 2 diabetes mellitus (type 2 DM).

**Methods**. The study included 133 patients with type 2 diabetes with ventricular arrhythmias, which were classified according to Lown B. and Wolf M. (1971). The patients were randomized into 3 observation groups. The entire study period was divided into 3 stages. Patients of group 1 (n=44) received amiodarone and a beta-blocker (BAB). Representatives of the 2nd group (n=45) received the same treatment, but in combination with meldonium. Representatives of group 3 (n=44) received treatment with amiodarone, BAB, and trimetazidine. All patients underwent ECG, 24-hour cardiac monitoring, and echocardiography.

**Results**. The frequency of classes of ventricular arrhythmias among the examined patients was different. Thus, the frequency of class III was 54.9%, class IVA – 26.3%, class IVB – 11.3%, class V – 7.5%. Potential causes of electrical instability of the myocardium are hypoglycemia, postprandial hyperglycemic "peaks", silent myocardial ischemia, post-infarction cardiosclerotic changes, left ventricular hypertrophy, left ventricular diastolic dysfunction, insulin resistance, hyperinsulinemia. In group 1, the dynamics of class III frequency was characterized by a significant decrease from stage to stage. In group 2, the frequency of the same class also decreased, however, between stages 1 and 2 in the form of a trend, then between stages 2 and 3 in the form of a statistically significant decrease. In group 3, on the contrary, a significant difference was noted between the stages and, unlike groups 1 and 2, in this group there was not a decrease in frequency, but, on the contrary, its increase. The frequency of class 4A in groups 1 and 2 did not change, while in group 3 it had a significant decrease both compared to the initial and intermediate values. The frequency of classes 4B and 5 did not change in all groups.

**Conclusion**. In patients with type 2 diabetes with ventricular arrhythmias, the frequency of class III was 54.9%, class IVA – 26.3%, class IVB – 11.3%, class V – 7.5%. Potential causes of the occurrence/maintenance of ventricular arrhythmias are: hypoglycemia, postprandial hyperglycemic "peaks", BMI, left ventricular hypertrophy, post-infarction scar changes, left ventricular diastolic dysfunction, insulin resistance and hyperinsulinemia. Trimetazidine as a component of complex antiarrhythmic therapy made it possible to significantly more effectively reduce the frequency of classes 3 and 4A, and the antiarrhythmic effect increased with long-term use of the drug. Cardioprotectors as components of a comprehensive antiarrhythmic program did not have a statistically significant effect on the frequency of high-grade ventricular arrhythmias.

*Keywords:* electrical instability of the myocardium, ventricular arrhythmias, type 2 diabetes mellitus

## Введение

Желудочковые нарушения сердечного ритма, в особенности, высоких градаций при сахарном диабете 2 типа (СД 2 типа) являются жизнеугрожающим состоянием, обуславливающем высокую частоту внезапной сердечной смерти (ВСС) [3]. В основе аритмического синдрома у больных СД 2 типа лежит сложный многокомпонентный патологический процесс, компонентами которого являются глюкозотоксичность, гиперинсулинемия, инсулинрезистентность, структурное ремоделирование миокарда, электрическая нестабильность, микроангиопатическая перестройка.

Желудочковые нарушения ритма при диабете ассоциируются с ишемической болезнью сердца (ИБС), однако учитывая присутствие диабетической кардиомиопатии с безболевой ишемией миокарда (БИМ), такие аритмии могут появляться и вне связи с явной ИБС [1].

Дискуссии относительно целесообразности применения метаболитотропных средств как компонента противоаритмической терапии при хронических формах ИБС продолжаются. На данный момент доказательная база представлена только для триметазидина. Эффективность других представителей с позиции доказательной медицины остается не определенной в виду отсутствия широкомасштабных контролируемых исследований. В настоящее время метаболиторопные препараты рассматриваются в качестве одного из компонентов антиаритмической терапии при СД 2 типа [2]. Обоснованием их применения является одновременное существование диабетической кардиомиопатии, БИМ и ИБС – тесно патогенетически взаимосвязанных заболеваний [4].

Цель исследования состояла в выборе тактики коррекции электрической нестабильности миокарда и анализе факторов, влияющих на прогноз при желудочковых нарушений ритма у больных СД 2 типа.

## Методика

Пациенты были ознакомлены с целями, дизайном и основными положениями исследования. Они добровольно подписали информированное согласие для участия в проекте. В исследование включено 133 пациента СД 2 типа с желудочковыми нарушениями ритма в возрасте 53,0±1,5 года с длительностью диабета 7,0±0,3 лет. Критериями включения в исследование были: СД 2 типа средней тяжести в стадии суб-/компенсации на фоне комбинированной глюкозоснижающей терапии без инсулина, наличие желудочковых нарушений сердечного ритма классов III-V по Lown B. и Wolf M. (1971). Критериями, исключающими участие в исследовании, были: желудочковые нарушения ритма I и II классов, изолированные суправентрикулярные нарушения ритма, документированный инфаркт миокарда в анамнезе и/или статусе, явная, клинически значимая хроническая сердечная недостаточность, диабетическая нефропатия, почечная недостаточность. Верификацию диагноза СД 2 типа проводили в соответствии с критериями Комитета экспертов ВОЗ (1999 г.) и Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению сахарного диабета.

Инсулинрезистентность устанавливали с помощью гомеостатической модели HOMA (HOMA-IR, ед.) по формуле: инсулин натощак (мЕД/мл) × глюкоза натощак (ммоль/л)/22,5. При индексе HOMA>2,77 пациентов считали инсулинрезистентными.

ЭКГ покоя выполняли при помощи электрокардиографа ЭК12Т-01-Р-Д, Россия в 12 отведениях со скоростью движение ленты 50, 25 и 10 мм/секунду. Скорость 25 и 10 мм/с использовали с целью поиска, морфологической оценки и количественной фиксации нарушений ритма. Изучали интервал сцепления, связь появления/усиления аритмии с нагрузкой и возможными болевыми или безболевыми ишемическими эпизодами. Пользовались индексами Корнела и Соколова для верификации гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) по данным ЭКГ-исследования. Суточное мониторирование ЭКГ проводили при помощи кардиомонитора «Кардиотехника-04-АД-3», Россия. Желудочковые нарушения ритма классифицировали по Lown B. и Wolf M. (1971).

Сонографическое исследование сердца проводили по стандартной методике из трансторакального доступа при помощи эхокардиографа «Sonoscape S22», Китай. При величине индекса миокарда левого желудочка >125 г/м$^2$ для мужчин и >110 г/м$^2$ – для женщин констатировали наличие ГЛЖ.

После скринингового и инициализирующего этапов, методом случайной выборки больные были рандомизированы в 3 группы наблюдения, статистически однородные по возрасту (1-я и 2-я – t=0,4, p=0,66; 1-я и 3-я – t=1,9, p=0,06; 2-я и 3-я – t=1,5, p=0,12 соответственно), полу (1-я и 2-я - $\chi^2$=0,9, p=0,24; 1-я и 3-я – $\chi^2$=1,8, p=0,19; 2-я и 3-я - $\chi^2$=0,7, p=0,40 соответственно), длительности диабета (1-я и 2-я – t=1,7, p=0,16; 1-я и 3-я – t=0,6, p=0,64; 2-я и 3-я - t=0,1, p=0,92 соответственно), вариантам желудочковых нарушений ритма (1-я и 2-я – t=1,4, p=0,20; 1-я и 3-я – t=0,5, p=0,47; 2-я и 3-я – t=1,1, p=0,23 соответственно).

Весь период исследования был подразделен на 3 этапа. На этапе 1 проводили отбор и рандомизацию в группы наблюдения, исследовали исходные параметры, после чего начинали лечение. На этапе 2 выполняли повторные исследования показателей уже на фоне терапии. На этапе 3 изучали отдаленные результаты антиаритмического лечения.

Больные принимали двойную глюкозоснижающую терапию, одним из компонентов которой был метформин. Пациенты 1-й группы (n=44) в зависимости от клинической ситуации получали амиодарон орально или внутривенно. Режим его приема определялся клинической ситуацией, противоаритмической эффективностью и переносимостью. Вторым компонентом противоаритмической терапии был бета-адреноблокатор (БАБ). Представители 2-й группы (n=45) получали такое же лечение амиодароном и БАБ, но в сочетании с мельдонием по 500-1000 мг 1-2 раза в сутки 3 месяца с повторением следующего 3-х месячного курса через полгода (суммарно по 2 курса 2 раза в год). Представители 3-ей группы (n=44) получали лечение амиодароном, БАБ, метформином с триметазидином по 35 мг 2-3 раза в день 3-месяца с последующим повторением 3-х месячного курса через полгода (суммарно по 2 курса 2 раза в год).

Все пациенты получали базисное лечение ингибитором АПФ или сартаном не зависимо от исходного уровня артериального давления и тяжести артериальной гипертензии; ингибитором ГМГ-Ко редуктазы или фибратом (при выраженной гипертриглицеридемии); дезагрегантом (ацетилсалициловая кислота 75 мг/сутки). При наличии артериальной гипертензии к лечению добавляли с антигипертензивной целью дигидропиридиновый антагонист кальция.

Для статистической обработки использовали программу Statistica 6,0 («Statsoft», США). Анализ вида распределения проведен при помощи теста Шапиро-Уилка. При нормальном распределении

значимость различий цифровых значений между группами, а также между показателями между этапами исследования в каждой из групп оценивали при помощи t-критерия для зависимых или не зависимых выборок соответственно. Для оценивания влияния желудочковых нарушений ритма на прогноз использовали критерий Крускал-Уоллиса (kKW). При сравнении качественных показателей подсчитывали критерий $\chi^2$ (Хи-квадрат). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (p) был принят равным <0,05.

## Результаты исследования и их обсуждение

Частота классов желудочковых нарушений ритма среди обследованных пациентов была разной. Так, частота класса III составила 54,9%, IVA класса – 26,3%, IVB класса – 11,3%, V класса – 7,5%. В ходе анализа потенциальных причин инициирующих/потенцирующих электрическую нестабильность миокарда, установлено, что таковыми являются: гипогликемии у 18,0% (kKW=6,1, p=0,04), постпрандиальные гипергликемические «пики» у 37,6% (kKW=8,8, p=0,02), БИМ у 24,8% (kKW=11,6, p=0,007), постинфарктные кардиослеротические изменения у 11,3% (kKW=10,2, p<0,001), гипертрофия левого желудочка у 51,9% (kKW=7,5, p=0,03), диастолическая дисфункция левого желудочка у 15,8% (kKW=6,5, p=0,04), инсулинрезистентность у 84,2% (kKW=9,7, p<0,001), гиперинсулинемия у 72,2% (kKW=6,9, p=0,03). В группе 1 динамика частоты класса III характеризовалась статистически достоверным (p<0,05) уменьшением от этапа к этапу (табл. 1).

Таблица 1. Динамика классов желудочковых нарушений ритма на этапах исследования у больных СД 2-го типа

| Классы | Этапы | Группы и количество больных на каждом этапе исследования | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Группа 1<br>n=44<br>n=43<br>n=39 | Группа 2<br>n=45<br>n=45<br>n=40 | Группа 3<br>n=44<br>n=44<br>n=42 |
| 3 | I | 24(54,5%) | 24(53,3%) | 23(52,3%) |
| | II | 22(51,2%)[4] | 23(51,1%) | 26(59,0%)[234] |
| | III | 19(48,7%)[56] | 21(52,5%)[156] | 27(64,3%)[235] |
| 4A | I | 12(27,3%) | 12(26,7%) | 12(27,3%) |
| | II | 11(25,6%) | 11(24,4%) | 10(22,7%)[4] |
| | III | 10(25,6%)[5] | 10(25,0%)[5] | 7(16,7%)[2356] |
| 4B | I | 5(11,4%) | 6(13,3%) | 5(11,4%) |
| | II | 6(13,9%) | 7(15,6%) | 4(9,1%)[23] |
| | III | 6(15,4%) | 6(15,0%) | 4(9,5%)[23] |
| 5 | I | 3(6,8%) | 3(6,7%) | 4(9,1%) |
| | II | 4(9,3%) | 4(8,9%) | 4(9,1%) |
| | III | 4(10,3%) | 3(7,5%) | 4(9,5%) |

Примечания: 1)[1] – различия между аналогичными показателями в 1-ой и 2-ой группах статистически достоверны; [2] – различия между аналогичными показателями в 1-й и 3-й группах статистически достоверны; [3] – различия между аналогичными показателями в 2-й и 3-й группах статистически достоверны; [4] – различия между аналогичными показателями на этапах I и II статистически достоверны; [5] – различия между аналогичными показателями на этапах I и III статистически достоверны; [6] – различия между аналогичными показателями на этапах II и III статистически достоверны; 2) Этапы исследования: I – до лечения, II – через 3,5 месяца, III – через год; 3) В каждой ячейке таблицы приведен процент по отношению к числу больных на каждом этапе исследования

В группе 2 частота этого же класса также снижалась, однако, если между этапами 1 и 2 в виде тенденции (p>0,05), то между этапами 2 и 3 в виде статистически достоверного (p<0,05) уменьшения. В группе 3, напротив, отмечена статистически достоверная (p<0,05) разница между этапами и, в отличие от групп 1 и 2, в этой группе происходило не уменьшение частоты, а, напротив, ее увеличение. Мы считаем, что в группе 3 увеличение частоты больных с классом желудочковых нарушений ритма III происходило за счет относительного перераспределения части больных из более прогностически негативных классов в более позитивные. Частота класса IVA в группе 1 и 2 снижалась не достоверно (p>0,05), в то время, как в группе 3 она имела статистически значимое (p<0,05) уменьшение, как по сравнению с исходными, так и промежуточными значениями. Частота классов IVB и V во всех группах изменялась не достоверно (p>0,05).

Мы сочли важным остановиться на потенциальных причинах, лежащих в основе электрической нестабильности миокарда при диабете 2-го типа. Особенностями течения гипогликемических проявлений является нередкое отсутствие классических проявлений, таких, как чувство голода,

тремор, агрессивность, потливость [4]. У такой категории больных гипогликемические эпизоды чаще возникают ночью в виде кошмарных сновидений, повышения артериального давления или немотивированной тахикардии [6, 7].

Постпрандиальные гипергликемические состояния при СД 2 типа, как правило, протекают бессимптомно, не сопровождаясь появлением либо усилением сухости во рту, жажды и полиурии.

БИМ при СД 2 типа регистрируется с частотой от 10 до 50% в зависимости от продолжительности и тяжести диабета, компенсации углеводного обмена, суточной гликемической кривой и пр. [5]. В основе БИМ лежит комплекс нарушений коронарного кровотока, как атеросклеротического генеза, так и утраты болевой чувствительности, обусловленный сложным механизмом нарушения болевой иннервации.

При хронической ишемии миокарда в условиях дефицита макроэргических соединений возрастает ригидность стенок желудочков, что приводит к замедлению процессов диастолической релаксации [3]. Неоднородность/неравномерность волны деполяризации и реполяризации миокарда, возникающая в зонах ограниченного венечного кровотока, создает условия для возникновения и циркуляции волны возбуждения и последующего формирования жизнеугрожающих желудочковых аритмий [8].

Наиболее частым механизмом желудочковых аритмий высоких градаций является феномен «ри-энтри» – наличие одностороннего и задержанного проведения волны деполяризации вследствие нарушения межклеточных контактов и гетерогенности распространения и фрагментации волнового фронта деполяризации [5]. В основе желудочковых нарушений ритма высоких градаций часто лежит структурная патология [1, 4]. Морфологическим субстратом ремоделирования миокарда левого желудочка являются процессы, происходящие на всех уровнях структурной иерархии сердца. Молекулярные, клеточные, межуточные изменения при диабете на клиническом уровне проявляются изменениями размера, формы и функциональных возможностей сердца и его полостей в ответ на воздействие комплекса патологических кардиальных и экстракардиальных факторов [5].

Одним из морфологических субстратов, лежащих в основе возникновения/усугубления электрической нестабильности, являются постинфарктные рубцовые зоны и очаги кардиосклероза, которые в условиях диабетической кардиальной невропатии, могут протекать без боли и диагностироваться лишь ретроспективно.

ГЛЖ по данным сонографии сердца выявляют у 50-70% больных СД 2-го типа, что является отображением структурного ремоделирования и, косвенно указывает на усиление жесткостных характеристик миокарда [1]. Формирование ГЛЖ у такой категории больных почти всегда обусловлено гипертензивным синдромом, который может иметь как эссенциальное происхождение, так и являться проявлением диабетической нефропатии [2].

Помимо процессов структурного ремоделирования, неравномерность функциональных изменений кардиомиоцитов в условиях хронической ишемии при ИБС на фоне диабета, создают условия для изменения/нарушения/извращения процессов реполяризации. Именно неоднородность электрофизиологических свойств миокарда, которая является следствием миокардиального аритмогенного субстрата у больных с диастолической дисфункцией при диабете, может создавать основу желудочковых нарушений ритма [5].

В основе возникновения жизнеопасных аритмий лежит структурная и электрофизиологическая патология сердца. Если взаимосвязь проаритмогенных факторов с показателями систолической функции левого желудочка доказана достаточно убедительно, то роль нарушений диастолической функции в формировании электрической нестабильности миокарда остается недостаточно изученным направлением аритмологии [7, 8]. Вероятно, диастолическая дисфункция левого желудочка, как следствие увеличения жесткости миокарда и ухудшения растяжимости, пластичности и податливости, может рассматриваться в качестве одного из важных, частых, хотя и малосимптомных причин, лежащих в основе электрической нестабильности миокарда у диабетической категории больных.

Точкой приложения негативного воздействия глюкозотоксичного механизма при СД 2-го являются кардиальные и эндотелиальные структуры [1].

Избыток жирных кислот при диабете в сочетании с дисрегуляцией липидного обмена лежат в основе «липотоксиности». Накопление в миокарде и эпикардиальной ткани триглицеридов и недоокисленных метаболитов сопровождается вторичной метаболической сократительной дисфункцией, активацией гипертрофических процессов, усиленным окислительным стрессом, стимуляцией апоптоза и процессов эндогенного воспаления, что в совокупности ведет как к

усилению инсулинрезистентности, так и усугублению уже имеющихся кардиальных проявлений [2].

С гипергликемией и глюкозотоксичностью связано и чрезмерное накопление конечных продуктов гликирования, в том числе макромолекул, неферментативно модифицированных глюкозой во внеклеточном матриксе, что изменяет свойства матричного коллагена и его соотношения с эластином, результатом чего является доминирование жесткостных компонентов матрикса над эластичными. Это является морфологическим субстратом, лежащим в основе ухудшения/изменения/извращения процессов релаксации миокарда, снижения продолжительности диастолы (на ранних этапах ХСН), появления диастолической дисфункции и последующей медленной утратой контрактильных свойств левым желудочком [3].

Накопление конечных продуктов гликирования при СД 2-го типа приводит к так называемому «микрососудистому ремоделированию» в виде утолщения мембран капилляров с образованием микроаневризм, снижению глобальной плотности капиллярного русла и повышению их проницаемости, интенсификации миокардиальной ишемии и развитию в конечном итоге диабетической кардиомиопатии.

## Выводы

1. У больных СД 2-го типа с желудочковыми нарушениями ритма частота III класса составила 54,9%, IVA класса – 26,3%, IVB класса – 11,3%, V класса – 7,5%.
2. Потенциальными причинами возникновения/поддержания желудочковых нарушений ритма являются: гипогликемии (у 18,0%), постпрандиальные гипергликемические «пики» (у 37,6%), БИМ (у 24,8%), ГЛЖ (у 51,9%), постинфарктные рубцовые изменения (у 11,3%), диастолическая дисфункция левого желудочка (у 15,8%), инсулинрезистентность (у 84,2%) и гиперинсулинемия (у 72,2%).
3. Триметазидин как компонент комплексной противоаритмической терапии позволил достоверно более эффективно снизить частоту III и IVA классов желудочковых нарушений ритма, причем антиаритмический эффект нарастал пропорционально длительности его приема. Кардиопротекторы (мельдоний и триметазидин) как компоненты комплексной противоаритмической программы, в равной степени не оказывали влияния на частоту желудочковых нарушений ритма высоких градаций.

## Литература (references)


1. Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Егорова М.В. и др. Особенности сопряжения функционального и метаболического ремоделирования миокарда при коморбидном течении ишемической болезни сердца и сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. – 2019. – №22(1). – С. 25-34 [Afanasyev S.A., Kondratyeva D.S., Egorova M.V. and i dr. *Saharnyj diabet*. Diabetes mellitus. – 2019. – N22(1). – P. 25-34. (in Russian)]
2. Григорян С.В., Азарапетян Л.Г., Степанян А.А. Опыт применения мельдония у больных с желудочковой экстрасистолией ишемического генеза // Кардиология. – 2019. – №59(7). – С. 26-30. [Grigoryan S.V., Azarapetyan L.G., Stepanyan A.A. *Kardiologiya*. Cardiology. – 2019. – N.59(7). – P. 26-30. (in Russian)]
3. Татарченко И.П., Денисова А.Г., Позднякова Н.В., Морозова О.И. Электрическая нестабильность миокарда при диастолической сердечной недостаточности и нарушении углеводного обмена // Известия высших учебных заведений. – 2015. – №1(33). – С. 101-111. [Tatarchenko I.P., Denisova A.G., Pozdnyakova N.V., Morozova O.I. *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedenij*. News of higher educational institutions. – 2015. – N1(33). – P. 101-111. (in Russian)]
4. Татарченко И.П., Позднякова Н.В., Денисова А.Г., Морозова О.И. Клинико-инструментальный анализ желудочковых нарушений ритма при диастолической сердечной недостаточности у больных сахарным диабетом 2-го типа // Проблемы эндокринологии. – 2015. – №2. – С. 21-27. [Tatarchenko I.P., Pozdnyakova N.V., Denisova A.G., Morozova O.I. *Problemy endokrinologii*. Problems of endocrinology. – 2015. – N2. – P. 21-27. (in Russian)]
5. Шурдумова М.Г. Патогенетические предпосылки электрической нестабильности миокарда у больных артериальной гипертензией и сахарным диабетом // Медицинский вестник Юга России. – 2015. – №3. – С. 8-17. [Shurdumova M.G. *Medicinskij vestnik Yuga Rossii*. Medical Bulletin of the South of Russia. – 2015. – N3. – P. 8-17. (in Russian)]

6. Amiel S.A., Aschner P., Childs B. et al. Hypoglycaemia, cardiovascular disease, and mortality in diabetes: epidemiology, pathogenesis, and management // Lancet Diabetes and Endocrinology. – 2019. – V.7. – P. 385-396.
7. Andersen A., Bagger J.I., Baldassarre M.P.A. et al. Acute hypoglycemia and risk of cardiac arrhythmias in insulin-treated type 2 diabetes and controls // European Journal of Endocrinology. – 2021. – V.1. – N185(2). – P. 343-353.
8. Tse G., Tsz Him Lai E., Tse V., Yeo J.M. Molecular and electrophysiological mechanisms underlying cardiac arrhythmogenesis in diabetes mellitus // Journal of Diabetes Research. – 2016. – V.2016. – P.113-115.

**Информация об авторах**

*Мухин Игорь Витальевич* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней №4 ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России. E-mail: zambezi29@mail.ru

*Зубрицкий Кирилл Сергеевич* – аспирант кафедры внутренних болезней №4 ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России. E-mail: amitriptilinum@gmail.com

*Миминошвили Валерий Романович* – ассистент кафедры внутренних болезней №4 ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Минздрава России. E-mail: bk112@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.12-089* 3.1.20 Кардиология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.14 EDN: MIIWSU*

# ПАРОКСИЗМЫ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ ПРИ ПЛАНОВЫХ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

**© Гуляева-Сельцовская Е.П., Дхиф И., Молс А.А., Симонян А.О., Чомахидзе П.Ш., Копылов Ф.Ю., Комаров Р.Н.**

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2*

*Резюме*

**Цель.** Выявить частоту возникновения и предикторы развития пароксизмов фибрилляции предсердий (ФП), возникающих в периоперационном периоде при плановых вмешательствах на аорте и клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения.

**Методика**. В исследование было включено 200 пациентов, которым выполнялись плановые хирургические вмешательства на клапанах сердца и/или грудном отделе аорты, в том числе операции Озаки и «Русский кондуит», аортокоронарное или маммарокоронарное шунтирование, у которых в анамнезе не было указаний на ФП. Было выполнено полное предоперационное обследование.

**Результаты.** Пароксизмы ФП были зарегистрированы у 19 пациентов (9,5%), из которых бессимптомными оказались 78,95% эпизодов. Большинство (84,2%) пароксизмов возникли в первые 5 суток после операции. Эпизоды ФП были расценены как основная причина 66,7% всех нефатальных инфарктов миокарда в периоперационном периоде и 50% фатальных инфарктов миокарда. Пациенты с ФП достоверно чаще имели в анамнезе гипертоническую болезнь, диастолическую дисфункцию миокарда 2 степени, а также гипокалиемию перед операцией. Среди данных эхокардиографии с развитием периоперационных эпизодов ФП ассоциировалось увеличение индекса объема левого предсердия >37 мл/м$^2$, а также снижение фракции выброса левого предсердия < 40%.

**Заключение.** У 9,5% пациентов после плановых вмешательств на аорте и клапанах сердца развились устойчивые эпизоды ФП, потребовавшие медикаментозной кардиоверсии. При многофакторном анализе выделены предикторы развития аритмии, определяющие группу пациентов, требующих непрерывного мониторирования ЭКГ не менее 5 суток после операции.

*Ключевые слова:* аорта, клапаны сердца, операция, фибрилляция предсердий, периоперационный риск

# PAROXYSMS OF ATRIAL FIBRILLATION DURING PLANNED CARDIAC SURGERY UNDER CARDIOPULMONARY BYPASS

Gulyaeva-Seltsovskaya E.P., Dhif I., Mols A.A., Simonyan A.O., Chomakhidze P.Sh., Kopylov F.Yu., Komarov R.N.

*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8-2, Trubetskaya St., Moscow, Russian Federation, 119991*

*Abstract*

**Objective.** To identify the incidence and predictors of the development of atrial fibrillation paroxysms that occur in the perioperative period during planned interventions on the aorta and heart valves under cardiopulmonary bypass.

**Methods**. The study included 200 patients who underwent elective cardiac surgeries on the heart valves, thoracic aorta, including Ozaki-operation and `Russian Conduit`, coronary artery bypass grafting or mammary coronary artery bypass grafting, and had no history of AF. A complete preoperative examination was performed.

**Results**. AF paroxysms were registered in 19 patients (9.5%) of all patients included in the study, of which 78.95% of episodes were asymptomatic. The majority (80%) of paroxysms occurred in the first 5 days after surgery. Episodes of AF have been regarded as the main cause of 66,7% of all non-fatal

myocardial infarctions (MI) in the perioperative period and 50% of fatal MI. Patients with AF were significantly more likely to suffer from a history of hypertension, diastolic myocardial dysfunction of the 2nd degree, as well as with initial hypokalemia. Among the ECHOCG data, the development of perioperative episodes of AF was associated with an increase in the left atrial volume index of more than 37 ml/m$^2$, as well as a decrease in the left atrial ejection fraction below 40%.

**Conclusion.** 9.5% of patients after elective interventions on the aorta and heart valves developed episodes of AF that required medical cardioversion. Multivariate analysis identified predictors of arrhythmia development, which determine the group of patients requiring continuous ECG monitoring for at least 5 days after surgery.

*Keywords*: aorta, heart valves, surgery, atrial fibrillation, perioperative risk

## Введение

Непрерывное совершенствование как хирургических, так и анестезиологических технологий позволяет проводить сложные вмешательства на сердце и аорте, однако частота периоперационных кардиальных осложнений (ПКО) сохраняется на уровне выше 5%, а летальность чаще достигает 3-4% [4, 6, 10]. Есть данные о том, что в послеоперационном периоде при аортокоронарном шунтировании (АКШ), иссечении аневризмы левого желудочка (ЛЖ) или вмешательстве на митральном клапане (всего 354 пациента) у 2,8% больных развивались нефатальные нарушения мозгового кровообращения, периоперационная летальность составила 3.3%, а частота инфаркта миокарда (ИМ) – 2.1% [6, 7]. Важным вопросом является частота и факторы риска возникновения нарушений сердечного ритма, в первую очередь фибрилляции предсердий (ФП) в послеоперационном периоде, которая возникает у 30–50% пациентов после операции на сердце. Это повышает риск развития различных осложнений, в частности инфаркта и инсульта, за счет дестабилизации гемодинамики и повышения риска тромбоэмболии [1, 7-9].

В литературе встречается исследование по выявляемости поздней фибрилляции предсердий и её предикторам у пациентов, перенесших хирургическое протезирование аортального клапана в условиях искусственного кровообращения. Из 1014 включенных в исследование ФП была выявлена у 401 пациента (40%), которым проводили регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ) через 3-12 месяцев после операции, при этом у 16 (4%) была поздняя ФП. Предикторами, связанными с развитием поздней ФП, были пожилой возраст, более высокий уровень креатинина перед операцией и срочное/экстренное хирургическое вмешательство [6, 7]. При этом частота и предикторы развития ранней ФП при протезировании аортального клапана не изучались. Данные показатели также не изучались при протезировании митрального клапана, грудного отдела аорты.

Более подробно изучался вопрос о риске возникновения эпизодов фибрилляции предсердий после АКШ. Большинство исследований ставило целью изучение определенных биомаркеров (BNP, NT-ProBNP, CRP, IL-6, Cr и PAI-1, sVCAM-1, sCD40L, Gal-3, альдостерон), без полноценной оценки остальных параметров. Данные значительно различаются в разных исследованиях и не имеют достаточного подтверждения для широкого клинического применения полученных результатов. Кроме того, в исследовании было показано, что пожилой возраст, инсульт и депрессия в анамнезе, хроническая обструктивная болезнь легких, интраоперационное использование внутриаортального баллонного насоса также являются факторами риска развития ФП после АКШ [5, 7, 10].

Вопрос развития ФП мало изучен при выполнении современных хирургических вмешательств, в частности при операциях Озаки и «Русский кондуит». Различия в частоте осложнений обусловлены различными типами вмешательств. Внедрение в клиническую практику новых методов хирургии сердца с применением искусственного кровообращения определило актуальность нашего исследования. Нами была изучена вероятность развития осложнений как при стандартных методах лечения клапанной патологии сердца и патологии аорты, так и при проведении таких операций как неокуспидизация аортального клапана створками из аутоперикарда (операция Озаки), а также методики протезирования корня аорты клапаносодержащим кондуитом из синтетического протеза со вшитыми в него аутоперикардиальными створками («Русский кондуит»).

Цель: выявить частоту возникновения и предикторы развития пароксизмов фибрилляции предсердий, возникающих в периоперационном периоде при плановых вмешательствах на аорте, клапанах сердца, АКШ и маммарокоронарное шунтирование (МКШ) в условиях искусственного кровообращения.

## Методика

В проспективное исследование последовательно было включено 200 пациентов. Исследование проводилось на базе клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в период с января 2021 по декабрь 2022 г. Все включенные в работу участники были старше 18 лет. Протокол исследования соответствовал Хельсинской декларации. Утвержден на заседании локальной этической комиссии Сеченовского Университета, протокол №28-20 от 07.10.2020 года. Письменное информированное согласие было получено от каждого участника.

Всем пациентам выполнялись плановые вмешательства по протезированию аортального или митрального клапанов, протезированию грудного отдела аорты или АКШ и/или МКШ в условиях искусственного кровообращения.

Критерии включения: мужчины и женщины старше 18 лет; плановое хирургическое вмешательство на клапанах, грудном отделе аорты, АКШ или МКШ в условиях искусственного кровообращения; отсутствие документированной ФП в анамнезе и до начала операции; согласие пациента на участие в исследовании. Критерии невключения: ФП в анамнезе, несогласие пациента участвовать в исследовании. Критерии исключения: отмена операции по любой причине.

Всем пациентам было выполнено полное предоперационное обследование: осмотр, ЭКГ в покое, суточное мониторирование электрокардиограммы, эхокардиография (ЭХОКГ).

ЭКГ регистрировалась в помощью аппарата Schiller CARDIOVIT AT-10. Суточное мониторирование ЭКГ осуществлялось с помощью аппарата Schiller MT 200. Ультразвуковое исследование сердца проводилось на сканере GE-VIVID 7. Оценки систолической функции проводилась на основании действующих рекомендаций, кроме этого, оценивалась деформация миокарда методом Speckle Tracking и фракция выброса левого предсердия. Объемы всех камер сердца пересчитывались на площадь поверхности тела.

Наличие пароксизмов ФП определялось по данным прикроватного монитора, повторных ЭКГ и суточного мониторирования ЭКГ. Конечной точкой нашего исследования было выявление эпизода ФП длительностью 30 с и более.

Учитывался период от начала операции до 30 суток после операции или до выписки (смерти) пациента, если она была позже 30 дня.

Статистическую обработку информации проводили с помощью Microsoft Exel 2020 и пакета SPSS v.17 с применением методов описательной статистики, межгруппового анализа, корреляционного анализа, однофакторного и многофакторного анализа методом логистической регрессии.

## Результаты исследования

Всего в исследование было включено 200 пациентов. Средний возраст составил 57,2±14.4 лет. В табл. 1 представлена характеристика всех пациентов, включенных в исследование.

Протезирование аортального клапана (всего 64 операции) выполнялось биологическим клапаном (24 пациентов), механическим клапаном (13 пациентов), а также створками из аутоперикарда – операция Озаки (27 пациентов). Протезирование митрального клапана (всего 34 операции) выполнялось биологическим клапаном (12 пациентов) и механическим клапаном (22 пациентов). Протезирование грудного отдела аорты (всего 64 операции) выполнялось следующими методами: протезирование корня аорты с сохранением собственного аортального клапана – операция Дэвида (13 пациента), операция Бенталло Де Боно (8 пациентов); протезирование дуги аорты (12 пациентов), протезирование дуги аорты вместе с аортальным клапаном (9 пациента), протезирование восходящего отдела аорты (11 пациентов), а также протезирование восходящего отдела аорты вместе с аортальным клапаном методом «Русский кондуит» – (11 пациента). Также выполнены 38 операции аортокоронарного и/или маммарокоронарого шунтирования.

Всего было зарегистрировано 19 эпизодов фибрилляции предсердий. Все пароксизмы имели длительность более 10 минут и потребовали медикаментнозного восстановления синусового ритма на фоне инфузии амиодарона. В табл. 2 представлены различные кардиохирургические вмешательства и частота развития осложнений от числа операций каждого типа.

Таблица 1. Общая характеристика пациентов (N=200)

| Параметр | Количество | % от N |
|---|---|---|
| Пол, мужчины | 120 | 60,0 |
| Старше 65 лет | 70 | 35,0 |
| Старше 75 лет | 9 | 4,5 |
| ИМТ ≥ 30 кг/м$^2$ | 22 | 11,0 |
| Гипертоническая болезнь (ГБ) | 82 | 41,0 |
| ГБ 2 стадии | 55 | 27,5 |
| ГБ 3 стадия | 43 | 21,5 |
| Ишемическая болезнь сердца | 36 | 18,0 |
| Стенокардия напряжения | 21 | 10,5 |
| Инфаркт в анамнезе | 14 | 7,0 |
| Реваскуляризация миокарда | 15 | 7,5 |
| Хроническая сердечная недостаточность | 75 | 37,5 |
| ОНМК в анамнезе | 5 | 2,5 |
| Сахарный диабет 2 типа | 16 | 8,0 |
| Хроническая обструктивная болезнь легких или бронхиальная астма | 11 | 5,5 |
| Курение в настоящее время | 34 | 17,0 |
| Злоупотребление алкоголем | 8 | 4,0 |
| Кардиотропная терапия | 156 | 78,0 |
| Гемоглобин ниже 120 г/л | 15 | 7,5 |
| Гемоглобин ниже 100 г/л | 4 | 2,0 |
| СКФ < 60 мл/кг/мин | 33 | 16,5 |
| Средний риск по шкале EuroSCORE II | 3.8 | - |

Примечание: указаны показатели анализа крови непосредственно перед операцией. ИМТ – индекс массы тела, ГБ – гипертоническая болезнь, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, рассчитана по методу CKD-EPI

Таблица 2. Виды хирургических вмешательств и частота развития осложнений

| Наименование операции | Число операций | Смерть от кардиальной причины* | ИМ | ФП |
|---|---|---|---|---|
| Протезирование аортального клапана биологическим протезом | 24 | 1 (3,1%) | 0 | 5 (20,8%) |
| Протезирование аортального клапана механическим протезом | 13 | 1 (3,1%) | 0 | 4 (30,8%) |
| Операции Озаки | 27 | 0 | 0 | 1 (3,7%) |
| Протезирование митрального клапана | 34 | 2 (5,9%) | 2 (5,9%) | 4 (11,8%) |
| Протезирование грудного отдела аорты | 64 | 0 | 2 (3,1%) | 2 (3,1%) |
| Аорто-коронарное и маммарно-коронарное шунтирование | 38 | 0 | 0 | 3 (9,1%) |

Примечание: * – указано число осложнений и % от данной группы операции; ИМ – инфаркт миокарда; ФП – фибрилляция предсердий

Наибольшее количество пароксизмов ФП наблюдалось после протезирования аортального клапана механическим и биологическим клапанами, а также после протезирования митрального клапана. После современных вмешательств – операция Озаки и «Русский кондуит», частота эпизодов ФП была минимальной. При операциях Озаки (всего 27 вмешательств) был выявлен лишь один эпизод ФП, что составило 3,7%. При операциях «Русский кондуит» пароксизмов ФП зарегистрировано не было. Мы проанализировали сроки возникновения кардиальных периоперационных осложнений. Все эпизоды фибрилляции/трепетания предсердий возникали в течение первых 7 дней после операции из 30 дней наблюдений, чаще всего в течение 2-5 суток. Распределение представлено на рис. 1.

Средняя длительность эпизода ФП составила 39,2 минуты (минимально 18 минут, максимально 1,5 часа). Все эпизоды были купированы медикаментозной кардиоверсией (внутривенное введение амиодарона). Оказалось, что жалобы на ухудшение самочувствия или учащенное сердцебиение выявлялись у 4 пациентов из 19 (21.05%). Остальные пациенты не предъявляли новых жалоб на фоне возникновения пароксизма ФП.

Был проведен анализ анамнестических данных и результатов лабораторно-инструментального обследования. Были выявлены параметры, достоверно различающиеся у пациентов с пароксизмами ФП и без них (табл. 3).

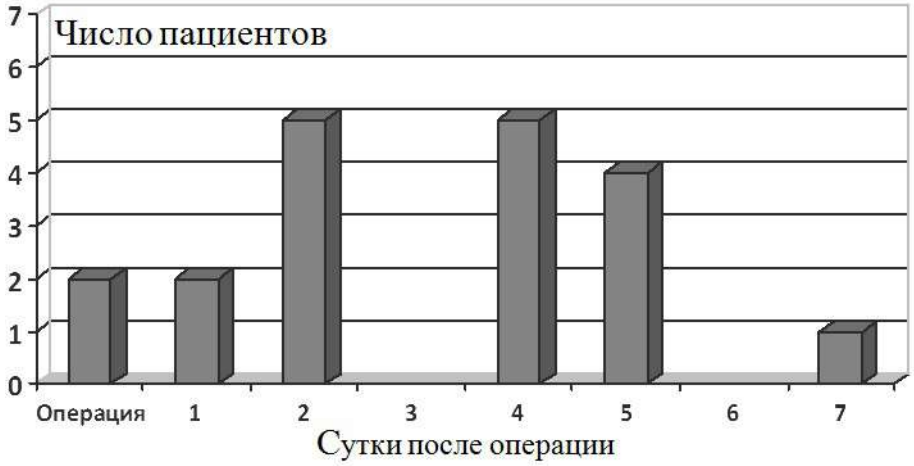



Рис. 1. Распределение эпизодов фибрилляции предсердий по дням периоперационного периода

Таблица 3. Параметры, ассоциированные с развитием пароксизма ФП в периоперационном периоде. Однофакторный анализ

| Параметр | Пациенты без ФП | Пациенты с пароксизмом ФП | ОШ (95%ДИ) | p |
|---|---|---|---|---|
| Гипертоническая болезнь 2 и 3 стадии | 33,5 | 70,0 | 5,4 (1,3-22,5) | 0,01 |
| Калий в крови до операции ниже 3,5 ммоль/л после операции | 5,5 | 50,0 | 17,0 (3,7-78,7) | <0,01 |
| Индекс объема левого предсердия (мл/м2) | 33,0 30,3-42,2 | 39,3 32,5-49,2 | - | 0,03 |
| Индекс объема левого предсердия больше 37 мл/м$^2$ | 7,0 | 17,0 | 9,75 (2,4-39,7) | <0,01 |
| Фракция выброса ЛП | 42,9 (33,4-49,3) | 33,9 (32,2-39,4) | - | 0,03 |
| Фракция выброса ЛП меньше 40% | 14,0 | 52,0 | 6,5 (1,6-25,85) | <0,01 |
| Диастолическая дисфункция ЛЖ 2 степени | 32,0 | 70,0 | 3,2 (0,77-13,1) | <0,01 |

Примечание: ФП – фибрилляция предсердий, ЛП – левое предсердие, ОШ – отношение шансов. Для качественных переменных указан процент от числа пациентов данной подгруппы. Для количественных – на первой строке ячейки представлена медиана, на второй – интерквартильный интервал, на третьей – минимальное – максимальное значения

Таким образом, индексированный объем ЛП и фракция выброса левого предсердия достоверно различаются у пациентов с пароксизмами ФП и без них. Проводился анализ различных параметров кардиохирургических операций у пациентов с ФП и без (табл. 4).

Таблица 4. Параметры выполненных хирургических вмешательств, достоверно отличающиеся в группах пациентов с и без ФП.

| Параметр | Протезирование аортального клапана ФП-/ФП+ | Протезирование митрального клапана ФП-/ФП+ | Протезирование грудного отдела аорты ФП-/ФП+ | Аортокоронарное и маммарокоронарное шунтирование ФП-/ФП+ |
|---|---|---|---|---|
| Число пациентов | 25/5 | 15/0 | 28/2 | 22/3 |
| Длительность операции (часы) | 5,5±2,1 / 6,9±2,8* | 6,6±3,3 / 7,5±3,2 | 6,1±1,7 / 6,4±1,8 | 7,2±1,9 / 7,0±2,1 |
| Объем кровопотери (мл) | 980,4±421,3 / 1022,3±455,5* | 1643,2±1385,1 / 1648,3±1385,5 | 1611,3±933,3 / 1617,2±936,2 | 1311,2±724,2 / 1496,0±782,7* |
| Общий объем инфузии (мл) | 2332,3±1104,4 / 2688,9±1180,2* | 2004,3±945,2 / 2003,2±941,1 | 2345,4±1193,1 / 2338,3±1197,1 | 2219,2±663,5 / 2212,2±649,4 |

Примечание: ФП – фибрилляция предсердий. В таблице представлено среднее значение и стандартное отклонение параметров. *p<0.05 (критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони)

Был проведен многофакторный регрессионный анализ с выделением наиболее значимых предикторов периоперационной ФП (табл. 5).

Таблица 5. Параметры, ассоциированные с развитием пароксизма ФП в периоперационном периоде. Многофакторный анализ

| Параметр | ОШ (95% ДИ) | p |
|---|---|---|
| Индекс объема левого предсердия более 37 мл/м$^2$ | 1,83 (1,01-2,29) | 0,013 |
| Гипертоническая болезнь 2 и 3 стадии | 1,77 (1,3-2,21) | 0,022 |
| Диастолическая дисфункция левого желудочка 2 степени | 2,1 (1,07-3,31) | 0,024 |
| Скорость движения латеральной части фиброзного кольца митрального клапана менее 7 см/с | 1,97 (1,12-4,22) | 0,03 |

## Обсуждение результатов исследования

На сегодняшний день требуются тщательный анализ частоты и причин развития различных периоперационных осложнений при проведении современных кардиохирургических вмешательств у нас в стране. Все чаще выполняются такие операции как операция Дэвида, протезирование аортального клапана с использованием аутоперикарда - операция Озаки, а также операция «Русский кондуит» и другие. Важным вопросом остается предикция развития фибрилляции предсердий, осложнения, которое в значительной степени ухудшает состояние пациента и его прогноз.

В исследование были включены пациенты, которым выполнялись различные вмешательства в условиях искусственного кровообращения. Данные по основным периоперационным осложнениям не превышали мировые: летальность – 1,7%, нефатальный инфаркт миокарда – также 1,7%. Следует обратить внимание на значительно более низкий риск развития фибрилляции предсердий при современных операциях: операция Озаки, а также операция «Русский кондуит» – не более 3.5% по сравнению с мировыми данными (около 30-50% [2, 10]). Внедрение новых методик операции, сокращающее время вмешательства, объем кровопотери и другие параметры операции, ведут к снижению риска периоперационных осложнений, в том числе фибрилляции предсердий. Проблема ФП в кардиохирургии стоит весьма остро по сравнению с другими осложнениями [8, 9]. По результатам одного из исследований, проведенного при внесердечных операциях, пароксизмы фибрилляции/трепетания предсердий были зарегистрированы в периоперационном периоде у 4,6% пациентов, и в большинстве случаев приводили к дестабилизации показателей гемодинамики и достоверно коррелировали с наличием в анамнезе сахарного диабета (ОШ 2,1) и гипертонической болезни (ОШ 2,4) [3]. Наши данные делают возможным выделение группы риска развития ФП по данным анамнеза и предоперационного обследования. Было показано, что необходимо определять такие параметры ЭХОКГ как индекс объема и фракцию выброса левого предсердия, что доступно на большинстве современных УЗИ-сканеров. При проведении многофакторного анализа значимыми предикторами периоперационной ФП, позволяющими определить группу повышенного риска аритмии, оказались индекс объема левого предсердия более 37 мл/м2, наличие в анамнезе ГБ 2-3 стадии, а также проявления значимой диастолической дисфункции левого желудочка. У пациентов повышенного риска развития периоперационной ФП требуется ежедневное мониторирование ЭКГ, особенно в первые 5 суток, для выявления аритмии и её своевременного лечения, особенно учитывая то, что характерные жалобы отсутствовали практически у 80% пациентов с ФП.

## Заключение

Частота эпизодов ФП при современных типах операций на аорте и аортальном клапане (операции Озаки и «Русский кондуит») значительно ниже, чем при иных вариантах кардиохирургических вмешательств. Пациентов после кардиохирургических операций следует наблюдать не менее 5 дней, когда регистрировались большинство эпизодов ФП. Группу повышенного риска ФП составляют пациенты с индексом объема левого предсердия более 37 мл/м$^2$, с ГБ, а также с диастолической дисфункцией левого желудочка 2-3 степени.

## Литература (references)

1. Ломиворотов В.В., Ефремов С.М., Покушалов Е.А., Бобошко В.А. Фибрилляция предсердий после кардиохирургических операций: патофизиология и методы профилактики (часть 2). Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т.14, №2. – С. 64-71. [Lomivorotov V. V., Efremov S. M., Pokushalov E. A., Boboshko V. A. Fibrillyaciya predserdij posle kardiohirurgicheskih operacij: patofiziologiya i

metody profilaktiki (chast' 2). *Vestnik anesteziologii i reanimatologii*. Bulletin of Anesthesiology and Intensive Care. – 2017. – V.14, N2. – P. 64-71. (in Russian)]

2. Чернов И.И., Энгиноев С.Т., Комаров Р.Н., Базылев В.В. и др. Непосредственные результаты операции Ozaki: многоцентровое исследование. Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т.25(4S). – С. 4157. [Chernov I.I., Enginoev S.T., Komarov R.N., Bazylev V.V. i dr. Neposredstvennye rezul'taty operacii Ozaki: mnogocentrovoe issledovanie. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*. Russian Journal of Cardiology. – 2020. – V.25(4S). – P. 4157. (in Russian)]
3. Чомахидзе П.Ш., Полтавская М.Г., Оби Ж., Седов В.П., Сыркин А.Л. Фибрилляция предсердий в периоперационном периоде при внесердечных операциях. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. – 2019. – Т.7, №4. – С. 72-77. [Chomahidze P.SH., Poltavskaya M.G., Obi ZH., Sedov V.P., Syrkin A.L. Fibrillyaciya predserdij v perioperacionnom periode pri vneserdechnyh operaciyah. *Klinicheskaya i eksperimental'naya hirurgiya. Zhurnal imeni akademika B.V. Petrovskogo*. Clinical and experimental surgery. The journal named after Academician B.V. Petrovsky. – 2019. – V.7, N4. – P. 72-77. (in Russian)]
4. Ball L., Costantino F., Pelosi P. Postoperative complications of patients undergoing cardiac surgery // Current opinion in critical care. – 2016. – V.22, N4. – P. 386-92.
5. Choi H.J., Seo E.J., Choi J.S., Oh S.J., Son Y.J. Perioperative risk factors for new-onset postoperative atrial fibrillation among patients after isolated coronary artery bypass grafting: A retrospective study // Journal of Advanced Nursing. – 2022. – V.78, N5. – P. 1317-1326.
6. Gogayeva O.K., Rudenko A.V., Lazoryshynets V.V. Postoperative cerebrovascular complications in high-risk patients with coronary artery disease in cardiac surgery // Ukrainian Neurosurgical Journal. – 2021. – V.27, N2. – P. 49-55.
7. Khan M.S., Yamashita K., Sharma V., Ranjan R., Selzman C.H., Dosdall D.J. Perioperative Biomarkers Predicting Postoperative Atrial Fibrillation Risk After Coronary Artery Bypass Grafting: A Narrative Review // Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2020. – V.34, N7. – P. 1933-1941.
8. Ong C.S., Reinertsen E., Moonsamy P., Young K. et al. Late onset atrial fibrillation in patients undergoing surgical aortic valve replacement. Journal of Cardiac Surgery. – 2022. – V.37, N.2. – P. 285-289.
9. Ronsoni R.M., Souza A.Z.M., Leiria T.L.L., Lima G.G. Update on Management of Postoperative Atrial Fibrillation After Cardiac Surgery. Brazilian journal of Cardiovasculary Surgery. – 2020. – V.35, N2. – P. 206-210.
10. Wong, M.K.H., Bhatia I., Chan D.T.L., Ho C.K.L., Au T.W.K. Risk stratification for cardiac surgery: Comparison in a Hong Kong population. Surgical Practice. – 2019. – V.23, N.4. – P. 146-155.

**Информация об авторах**

*Екатерина Петровна Гуляева-Сельцовская* – врач-кардиолог клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: gulyaeva-seltsovskaya_e_p@staff.sechenov.ru

*Инес Дхиф* – аспирант кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: ines.dhif@hotmail

*Александр Антуан Молс* – студент лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: mols1999@gmail.com

*Ашот Оганнесович Симонян* – врач-сердечно-сосудистый хирург клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: simonyan_a_o@staff.sechenov.ru

*Петр Шалвович Чомахидзе* – профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: petr7747@mail.ru

*Филипп Юрьевич Копылов* – профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: kopylov_f_yu@staff.sechenov.ru

*Роман Николаевич Комаров* – заведующий кафедрой факультетской хирургии №1 им. Н.Н. Бурденко ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). E-mail: komarov_r_n@staff.sechenov.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.09.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.36 - 616.155.194* 3.1.20 Кардиология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.15 EDN: QQGJAQ*

# СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

**© Эмомзода И.Х.[1], Одинаев Ш.Ф.[2], Раджабзода М.Э.[1], Файзуллоев Х.Т.[1], Турсунов Р.А.[3]**

[1]*Республиканский клинический центр кардиологии, Таджикистан, 734026, Душанбе, пр. И. Сомони, 59*
[2]*Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, Таджикистан, 734025, Душанбе, пр. Рудаки, 139*
[3]*Таджикский национальный университет, медицинский факультет, Таджикистан, 734025, Душанбе, пр. Рудаки,17*

*Резюме*

**Цель.** Выявление нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы и сократительной функции миокарда у пациентов с анемическим синдромом.

**Методика.** В основу работы положены результаты кардиологического обследования и стационарного лечения 120 пациентов с анемиями различной степени, имеющие функциональные и органические нарушения со стороны деятельности сердечно-сосудистой системы. Исследование проведено за период с 2019 по 2023 гг. в отделениях Республиканского клинического центра кардиологии г. Душанбе.

**Результаты.** У пациентов с лёгкой степенью анемического синдрома были выявлены следующие изменения***:*** артериальная гипертензия регистрировалась у 6 (15,0%) пациентов, пониженные показатели и стабильная гипотония регистрировалась у 6 (15,0%) пациентов. По данным записей ЭКГ нарушения ритма сердца у пациентов данной группы выявлено не было, а ЧСС в данной группе пациентов имело стабильную тенденцию к умеренной тахикардии. У пациентов со средней степенью анемического синдрома артериальная гипертензия регистрировалась у 11 (27,5%) пациентов, стабильная гипотония отмечалась у 8 (20,0%) пациентов. Экстрасистола была выявлена у 3 (7,5%), синусовая тахикардия – у 18 (45,0%), брадикардия – у 5 (12,5%) пациентов. Осмотр и обследование пациентов с тяжёлыми формами анемического синдрома позволили выявить различные отклонения от работы сердечно-сосудистой системы. У большей половины группы 22 (55,0%) пациентов с тяжелой анемией отмечена синусовая тахикардия, тогда как брадикардия регистрировалась у 9 (22,5%). Повышенные цифры артериального давления отмечены у 21 (52,5%) пациентов, различные нарушения ритма и проводимости – у 33 (82,5%) пациентов, которые регистрировались в виде экстрасистол, блокад ножек пучка Гиса, нарушений процессов реполяризации, субэндокардиальной ишемии миокарда и других нарушений.

**Заключение.** У пациентов с железодефицитной анемией средней и тяжёлой степени тяжести формируются нарушения ремоделирования миокарда, что проявляется нарушением сегментарной (локальной) диастолической функции левого и правого желудочков, расширением полостей сердца, гипертрофией миокарда левого желудочка, межжелудочковой перегородки на фоне глобального снижения сократительной способности миокарда.

*Ключевые слова:* железодефицитная анемия, сердечно-сосудистая система, функция миокарда, анемический синдром

# CONDITION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN PATIENTS WITH ANEMIC SYNDROME

Emomzoda I.Kh.[1], Odinaev Sh.F.[2], Rajabzoda M.E.[1], Faizulloev H.T.[1], Tursunov R.A.[3]

[1]*Republican Clinical Center of Cardiology, 59, I. Somoni Ave., 734026, Dushanbe, Tajikistan*
[2]*Avicenna Tajik State Medical University, 139, Rudaki Ave., 734025, Dushanbe, Tajikistan*
[3]*Tajik National University, Faculty of Medicine, 17, Rudaki Ave., 734025, Dushanbe, Tajikistan*

*Abstract*

**Objective.** The purpose of the study is to identify disorders of the cardiovascular system and myocardial contractile function in patients with anemic syndrome.

**Methods.** The work is based on the results of a cardiological examination and inpatient treatment of 120 patients with anemia of varying degrees, having functional and organic disorders of the cardiovascular system. The study was conducted for the period from 2019 to 2023 in the departments of the Republican Clinical Center of Cardiology in Dushanbe.

**Results.** In patients with a mild degree of anemic syndrome, the following changes were identified: arterial hypertension was recorded in 6 (15.0%) patients, decreased levels and stable hypotension were recorded in 6 (15.0%) patients. According to ECG recordings, no heart rhythm disturbances were detected in patients of this group, and the heart rate in this group of patients had a stable tendency towards moderate tachycardia. In patients with moderate anemic syndrome, arterial hypertension was recorded in 11 (27.5%) patients, stable hypotension was observed in 8 (20.0%) patients. Extrasystole was detected in 3 (7.5%), sinus tachycardia – in 18 (45.0%), bradycardia – in 5 (12.5%) patients. Examination of patients with severe forms of anemic syndrome revealed various deviations from the functioning of the cardiovascular system. More than half of the group of 22 (55.0%) patients with severe anemia had sinus tachycardia, while bradycardia was recorded in 9 (22.5%). Elevated blood pressure figures were noted in 21 (52.5%) patients, various rhythm and conduction disturbances were observed in 33 (82.5%) patients, which were recorded in the form of extrasystoles, bundle of His branch blocks, disturbances in repolarization processes, subendocardial myocardial ischemia and other violations.

**Conclusion.** In patients with iron deficiency anemia of moderate and severe severity, myocardial remodeling disorders are formed, which is manifested by a violation of the segmental (local) diastolic function of the left and right ventricles, dilation of the heart cavities, hypertrophy of the left ventricular myocardium, the interventricular septum against the background of a global decrease in myocardial contractility.

*Keywords:* iron deficiency anemia, cardiovascular system, myocardial function, anemic syndrome

## Введение

Современные аспекты гематологии и кардиологии регистрируют факт того, что каждый третий пациент с анемическим синдромом имеет нарушение диастолической и систолической функции миокарда, что долгое время может компенсироваться резервами сердечно-сосудистой системы [1, 3, 4]. Снижение уровня гемоглобина на 10 г/л увеличивает риск смертности от коронарной патологии [2].

У пациентов с хронической анемией нередко развивается хроническая сердечная недостаточность, обусловленная диастолической дисфункцией миокарда желудочков, синусовая тахикардия, усугубляющая формирование экс или концентрическое ремоделирование и гипертрофию миокарда [1]. Сложность патогенетических аспектов ремоделирования миокарда зачастую у пациентов диагностируется на стадии стойкой хронической сердечной недостаточности, когда процессы становятся необратимыми. В тоже время практический опыт и литературные сведения показывают, что врачи в повседневной практике не всегда используют патогенетические препараты. Учёт представленных аспектов позволит своевременно корригировать состояние сердечно-сосудистой системы при анемическом синдроме, что позволит значительно снизить риск развития осложнений и летальности [3, 6, 8, 9].

Цель исследования – выявление нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы и сократительной функции миокарда у пациентов с анемическим синдромом.

## Методика

В основу работы положены результаты кардиологического обследования и стационарного лечения 120 пациентов с анемиями различной степени, имеющие функциональные и органические нарушения со стороны деятельности сердечно-сосудистой системы. Исследование проведено за период с 2019 по 2023 гг. в отделениях Республиканского клинического центра кардиологии г. Душанбе. Всего было обследовано 120 пациентов с различными степенями анемического железодефицитного синдрома, которые были распределены соответственно степеням тяжести анемии на 3 группы: 1 группа – 40 пациентов с лёгкой степенью анемии; 2 группа – 40 пациентов со средней степенью анемии и 3 группа – 40 пациентов с хроническими формами тяжёлой степени железодефицитной анемии. Из 120 пациентов 64 (53,3%) составили мужчины и 56 (46,7%)

женщин. Возраст пациентов колебался от 27 до 72 лет. В рамках исследования проведен анализ показателей сердечно-сосудистой системы: аускультативные данные на наличие патологических шумов, нарушения ритма (в дальнейшем регистрацией на ЭКГ, ЭхоКГ); измерения артериального давления, подсчёта частота сердечных сокращений и пульса.

Статистический анализ полученных результатов включал определение качественных признаков – абсолютных и относительных частот, выраженные в долях и процентах.

## Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе оценки состояния сердечно-сосудистой системы проведена аускультация сердца, учёт частоты и ритма сердечных сокращений. Так, оценка состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с лёгкой степенью анемического синдрома были выявлены следующие изменения*:* артериальная гипертензия регистрировалась у 6 (15,0%) пациентов, тогда как у большей части обследованных 28 (70,0%) артериальное давление было в пределах нормальных величин. Пониженные показатели и стабильная гипотония регистрировалась у 6 (15,0%) пациентов. По данным записей ЭКГ нарушения ритма сердца у пациентов данной группы выявлено не было, а ЧСС в данной группе пациентов имело стабильную тенденцию к умеренной тахикардии. Так, синусовая тахикардия регистрировалась у 12 (30,0%), тогда как брадикардия отмечена у 7 (17,5%) пациентов. ЧСС в пределах нормы была у 21 (52,5%) пациентов. Так, при оценке состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов со средней степенью анемического синдрома были выявлены следующие изменения: артериальная гипертензия регистрировалась у 11 (27,5%) пациентов, тогда как у половины обследованных 21 (52,5%) артериальное давление было в пределах нормальных величин. Пониженные показатели и стабильная гипотония регистрировалась у 8 (20,0%) пациентов.

По данным записей ЭКГ нарушения ритма сердца у пациентов данной группы были выявлены в виде единичных экстрасистол 3 (7,5%), а ЧСС в данной группе пациентов имело стабильную тенденцию к умеренной тахикардии. Так, синусовая тахикардия регистрировалась у 18 (45,0%), тогда как брадикардия отмечена у 5 (12,5%) пациентов. ЧСС в пределах нормы была у 21 (52,5%) пациентов.

Осмотр и обследование пациентов с тяжёлыми формами анемического синдрома позволили выявить различные отклонения от работы сердечно-сосудистой системы. При оценке работы сердца в большей степени обращала внимания синусовая тахикардия, которая была отмечена у большей половины группы 22 (55,0%), тогда как брадикардия регистрировалась у 9 (22,5%).

Различные нарушения ритма и проводимости были выявлены у 33 (82,5%) пациентов, которые регистрировались в виде экстрасистол, блокад ножек пучка Гиса, нарушений процессов реполяризации, субэндокардиальной ишемии миокарда и других нарушений. Повышенные цифры артериального давления отмечены у большей части обследованных данной группы 21 (52,5%) пациентов, тогда как гипотонические состояние было отмечено у 1 (2,5%) пациента.

Аускультативное исследование позволяет в данной группе пациентов у 18 пациентов выслушивать глухие сердечные тоны и нередко систолический шум на верхушке. Следовательно, тяжелые формы анемии сопровождаются возникновением ряда патологических состояний со стороны сердечно-сосудистой патологии. В первую очередь это проявляется нарушениями со стороны нарушения ритма сердца в виде синусовой тахикардии, появления гипертензионного синдрома (артериальной гипертензии).

Электрокардиографическое обследование сердечно-сосудистой системы позволило выявить наиболее частые отклонения в виде синусовой тахикардии, которая регистрировалась у 52 (43,3%) пациентов из общего числа обследованных пациентов (120 пациентов) и напротив состояние брадикардии регистрировалось с меньшей частой 9 (7,5%) пациентов.

Артериальная гипертензия была отмечена у 38 (31,6%) пациентов, тогда как гипотонические состояния только у 13 (10,8%) пациентов. На записях ЭКГ нередко регистрировались отклонения, указывающие на нарушения процессов реполяризации миокарда в виде депрессивных снижения сегмента в грудных отведениях $V_5$, $V_6$, 1-ом стандартном и aVL – у 17 (14,2%) пациентов. Особо важное внимание уделялось нами при наблюдении на ЭКГ синдрома $SV_1 \pm RV_5 > 35$ мм, как свидетельство гипертрофии левого желудочка и отклонение электрической оси сердца влево /угол А был равен от 0° до -90°/. Указанный признак гипертрофии левого желудочка или его косвенные признаки как увеличение внутреннего отклонения Jn $V_5 > 0{,}06$ сек./ отмечены у 14 (11,7%) от общего числа обследованных. Одной из важных особенностей ЭКГ изменений у обследованных была регистрация признаков нарушения коронарного кровообращения, и питания миокарда 12

(10,0%), что зачастую сочеталось с нарушением внутрижелудочковой проводимости (QRS>0,12 сек). Помимо указанных изменений нами выявлены нарушения ритма и проводимости сердца, в виде позднего зубца R в отведениях $V_1$, $V_2$ с косо нисходящим сегментом ST и отрицательным зубцом T, глубокими зубцами S в отведениях I, $V_5$, $V_6$, что характерно для блокады правой ножки пучка Гиса – 5 (4,1%) (рис. 1).

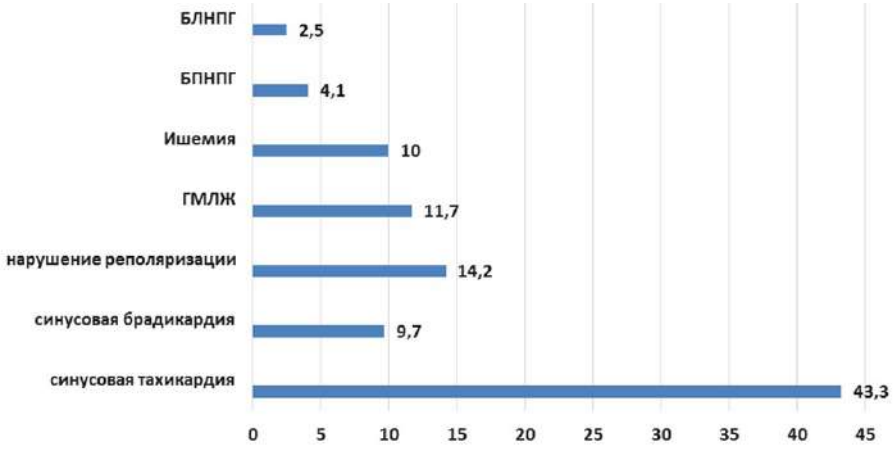



Рис. 1. Основные изменения на ЭКГ у обследованных: БЛНПГ – блокада левой ножки пучка Гиса; БПНПГ – блокада правой ножки пучка Гиса; ГМЛЖ – гипертрофия миокарда левого желудочка

В редких случаях у пациентов с тяжелыми формами анемического синдрома регистрировалась картина отклонения электрической оси сердца влево до (-90°), что сочеталось с низким зубцом R и глубокий зубцом S в стандартных отведениях ЭКГ II, III и и усиленном aVF. Все эти признаки на фоне высокого зубца R (I и aVL) на фоне удлинения PQ расценивались как блокада левой ножки пучка Гиса. Данные изменения регистрировались у 3 (2,5%) пациентов.

Большинство патологических отклонений в работе сердечно-сосудистой системы выявлены у пациентов со средней и тяжёлой степенью анемического синдрома. При этом необходимо указать, что длительное течение заболевание более 1 года сказывается на прямой зависимости с появлением тахикардии, экстрасистолии и дистрофическими проявлениями в миокарде.

Практический опыт наблюдения указывает, что при отсутствии клинических проявлений и минимальном сроке заболевания данные симптомы могут присутствовать. Так, начальным признаками формирования патологии сердца с практической точки зрения можно считать появление нарушения процессов реполяризации в миокарде и других нарушений ритма, что указывает на нарушение синтеза и генерации импульсов в синоатриальном узле миокарда под влиянием гемической гипоксии ан фоне анемического синдрома. При этом необходимо также отметить важную роль недостатка катехоламинов, что нередко является сопутствующим признаком анемии увеличивая симпатической активности [7, 10, 12]. Гемическая гипоксия способствует нарушению обмена веществ в клетках всего организма, а также в кардиомиоцитах обуславливая появление дистрофических изменений в миокарде. Следовательно, дистрофические процессы в миокарде, вызванные невоспалительным генезом находят своё отражение на данных ЭКГ в виде снижения вольтажа зубцов, изменений сегмента S-T, со сглаженностью зубца T и другими формами нарушений. Тогда как клиническая картина долгое время может находится в стабильной форме, то нарушения в миокарде начинаются уже с начала средней степени анемии и в первую очередь проявляются как синусовая тахикардия и нарушение процессов реполяризации [11, 13, 15].

Долгое время пациенты при таком синдроме могут жаловаться на тяжесть в области сердца и приступы сердцебиения при физической нагрузке. В силу компенсаторных возможностей миокарда и всего организма эти симптомы клинически долгое время не проявляются и долгое время на фоне анемического синдрома пациент считает себя практически здоровым.

Общегипоксическое действие анемии оказывают влияние на сердечно-сосудистую систему не только непосредственно на клетки органов и тканей, так и опосредованно через нервную и эндокринную систему. Определенная роль в патогенезе патологии сердца принадлежит влиянию нейрогормонов. В физиологических условиях известные катехоламины (адреналин, норадреналин)

обеспечивают нормальное функционирование сердечно-сосудистой системы. Очевидно, что у пациентов под воздействием длительных физических усилий, нервно-эмоциональных напряжений, гипоксического влияния происходит гиперпродукция катехоламинов, что подтверждается клиническими симптомами развития гипертонической болезни, ишемической болезни сердца [5, 13, 14].

## Заключение

Анализ клинических и электрокардиографических исследований позволяет выделить синдром формирования сердечно-сосудистых расстройств при анемии. При этом отклонения и патология системы кровообращения не является окончательной патологией и как следствие формирует дальнейшее развитие и формирование более сложной патологии сердца.

У пациентов с железодефицитной анемией средней и тяжёлой степени тяжести формируются нарушения ремоделирования миокарда, что проявляется нарушением сегментарной (локальной) диастолической функции левого и правого желудочков, расширением полостей сердца, гипертрофией миокарда левого желудочка, межжелудочковой перегородки на фоне глобального снижения сократительной способности миокарда.

## Литература (references)


1. Амосова Е.Н., Сидорова Л.Л., Царалунга В.Н. Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у больных с хронической сердечной недостаточностью коронарного генеза с сопутствующей железодефицитной анемией // Сердце и сосуды. – 2017. – №3. – С. 71-80. [Amosova Ye.N., Sidorova L.L., Tsaralunga V.N. *Serdtse i sosudy.* Heart and Vessels. – 2017. – N3. – P. 71-80. (in Russian)]
2. Будневский А.В., Овсянников Е.С., Редька А.В. Влияние анемии на течение сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – №15(1). – С. 64-68. [Budnevskiy A.V., Ovsyannikov Ye.S., Red'ka A.V. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* Cardiovascular therapy and prevention. – 2016. – N15(1). – P. 64-68. (in Russian)]
3. Быкова О.В., Орлова Н.В., Соловьева М.В. Ведение пациентов с хронической сердечной недостаточностью: акцент на анемический синдром // Справочник поликлинического врача. – 2018. – № 1. – С. 18-21. [Bykova O.V., Orlova N.V., Solov'yeva M.V. *Spravochnik poliklinicheskogo vracha.* Handbook of a polyclinic physician. – 2018. – N1. – P. 18-21. (in Russian)]
4. Ларина В.Н. Анемия в практике врача-терапевта: новый взгляд на старую проблему // Российский медицинский журнал. – 2019. – Т.27, №12. – С. 44-50. [Larina V.N. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* Russian Medical Journal. – 2019. – V.27, N12. – P. 44-50. (in Russian)]
5. Лексина Ю.Н. Роль раннего ремоделирования сосудов в развитии систоло-диастолической артериальной гипертензии в молодом возрасте // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2011. – Вып. 1. – С. 92-94. [Leksina Yu.N. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2011. – N1. –P. 92-94. (in Russian)]
6. Резник Е.В., Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И. Эхокардиография в практике кардиолога. – М.: Практика. – 2013. – 212 с. [Reznik Ye.V., Gendlin G.Ye., Storozhakov G.I. *Praktika.* Practice. – 2013. – 212 p. (in Russian)]
7. Тихонова Н.К. Особенности адаптации сердечно-сосудистой системы детей раннего возраста с дефицитными анемиями // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2005. – №4. – С. 76-79. [Tikhonova N.K. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2005. – N4. – P. 76-79. (in Russian)]
8. Ткаченко Е.И., Боровкова Н.Ю., Боровков Н.Н. Анемия при хронической сердечной недостаточности у больных гипертонической болезнью: патогенетические аспекты // Клиническая медицина. – 2019. – Т.97, №10. – С. 657-666. [Tkachenko Ye.I., Borovkova N.YU., Borovkov N.N. *Klinicheskaya meditsina.* Clinical medicine. – 2019. – V.97, N10. – P. 657-666. (in Russian)]
9. Ткаченко Е.И., Боровкова Н. Ю., Буянова М. В. Анемия при хронической сердечной недостаточности: взгляд на патогенез и пути коррекции // Доктор. Ру. – 2019. – №2. – С. 31-36. [Tkachenko Ye.I., Borovkova N. YU., Buyanova M.V. *Doktor. Ru.* Doctor. Ru. – 2019. – N2. – P. 31-36. (in Russian)]
10. Anand I., Gupta P. Anemia and iron deficiency in heart failure: current concepts and emerging therapies // Circulation. – 2018. – V.138, N1. – P. 80-98.
11. Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health // Journal of Research In Medical And Dental Science. – 2014. – N19(2). – P. 164-174.

12. Chang J.M., Chen S.C., Huang J.C. Anemia and left ventricular hypertrophy with renal function decline and cardiovascular events in chronic kidney disease // The American journal of the medical scientist. – 2014. – V.347, N23. – P. 183-189.
13. Naito Y., Sawada H., Oboshi M. Cardiac remodeling in response to chronic iron deficiency: role of the erythropoietin receptor // Journal of hypertension. – 2015. – V.33, N6. – P. 1267-1275.
14. Pallangyo P., Fredrick F., Bhalia S. Cardiorenal anemia syndrome and survival among heart failure patients in Tanzania: a prospective cohort study // BMC Cardiovascular disorers: electronic journal. – 2017. – V.17. – P. 1-6.
15. Pozzo J., Fournier P., Delmas C. et al. Absolute iron deficiency without anaemia in patients with chronic systolic heart failure is associated with poorer functional capacity // Archives of cardiovascular diseases. – 2017. – V.110, N2. – P. 99-105.

**Информация об авторах**

*Эмомзода Исматулло Хайдар* – врач-кардиолог Республиканского клинического центра кардиологии, Республика Таджикистан. E-mail: emomzoda_ikh@mail.ru

*Одинаев Шухрат Фарходович* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней № 1 Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино, Республика Таджикистан. E-mail: nnnn70@mail.ru

*Раджабзода Музафар Эмом* – доктор медицинских наук, директор Республиканского клинического центра кардиологии, Республика Таджикистан. E-mail: fhikmat83@mail.ru

*Файзуллаев Хикматулло Тоирович* – кандидат медицинских наук, заместитель директора Республиканского клинического центра кардиологии, Республика Таджикистан. E-mail: fhikmat83@mail.ru

*Турсунов Рустам Абдусамадович* – кандидат медицинских наук, заместитель декана по науке и международным связям Медицинского факультета Таджикского национального университета, Республика Таджикистан. E-mail: trustam.art@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.12-007.61* 3.1.20 Кардиология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.16 EDN: QRSMVT*

# ВЛИЯНИЕ САКУБИТРИЛА/ВАЛСАРТАНА НА СИСТЕМНЫЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ФИБРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С СНсФВ И ВЫРАЖЕННОЙ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТРОФИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

**© Гвоздева А.Д.[1], Филатова А.Ю.[1], Свирида О.Н.[1], Соболевская М.С.[1], Закиев В.Д.[2], Агеева С.Ф.[3], Масенко В.П.[1], Агеев Ф.Т.[1], Овчинников А.Г.[1]**

[1]*Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова, 121552, Москва, ул. Академика Чазова, 15а, Россия*

[2]*Российский геронтологический научно-клинический центр, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 129226, Москва, ул. 1-я Леонова, 16, Россия*

[3]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1*

*Резюме*

**Цель.** Оценить влияние сакубитрила/валсартана науровень маркеров воспаления и фиброза, а также клинический статус и диастолическую функцию левого желудочка (ЛЖ) у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) и выраженной гипертонической гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ).

**Методика.** В открытое проспективное исследование включен 61 пациент со стабильной СНсФВ II-III ФК и умеренной/тяжелой гипертонической концентрической ГЛЖ (индекс массы миокарда ЛЖ (ИММ ЛЖ) ≥132 г/м$^2$ у мужчин или ≥109 г/м$^2$ у женщин). Участники исследования были рандомизированы в группу приема сакубитрила/валсартана (100-400 мг/сут, n=30) и группу оптимальной медикаментозной терапии (включающей ранее принимаемый ингибитор АПФ/блокатор ангиотензиновых рецепторов (БАР), n=31) в течение 6 мес. Всем пациентам исходно и через 6 мес. выполнялись эхокардиографическое исследование, оценка качества жизни, тест с 6-минутной ходьбой (6-МТХ), в образцах крови анализировались уровни биомаркеров воспаления (высокочувствительный С-реактивный белок (вчСРБ), моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1)) и фиброза (С-концевой пропептидпроколлагена типа I (PICP), N-концевой пропептидпроколлагена типа III (PIIINP), ростовой фактор дифференцировки-15 (GDF-15), галектин-3, растворимый ST2 (sST2), остеопонтин), NT-proBNP.

**Результаты.** Через 6 месяцев прием сакубитрила/валсартана привел к увеличению дистанции 6-МТХ, уменьшению количества баллов Миннесотского опросника качества жизни (p<0,05 по сравнению с контрольной группой). Прием сакубитрила/валсартана сопровождался уменьшением индекса массы ЛЖ, максимального объёма левого предсердия (ЛП) и снижением соотношения E/e' (p<0,05). Через 6 месяцев приема сакубитрила/валсартана отмечалось снижение уровней вчСРБ (на 28 [-54; -16] %; p <0,001), остеопонтина (на 17 [-63 до -3] %; p=0,046), NT-proBNP (на 27 [-43 до -24]; p <0,001). Изменение уровня вчСРБ обратно коррелировало с изменением дистанции 6-МТХ (r=-0,44; p=0,002), положительно – с изменением количества баллов Миннесотского опросника качества жизни (r=0,35; p=0,013) и уровнем NT-proBNP (r=0,44; p=0,001).

**Заключение.** У пациентов с СНсФВ и выраженной концентрической ГЛЖ прием сакубитрила/валсартана сопровождался улучшением функциональных возможностей (увеличением дистанции 6-МТХ) и качества жизни, уменьшением массы миокарда ЛЖ, улучшением диастолической функции ЛЖ, а также снижением уровня NT-proBNP. Положительные клинические и гемодинамические эффекты сакубитрила/валсартана могут быть связаны с противовоспалительными и антифибротическими эффектами препарата, поскольку его прием сопровождался снижением концентрации ключевых растворимых маркеров воспаления (вчСРБ), фиброза (остеопонтин), а изменение вчСРБ коррелировало с изменением дистанции 6-МТХ, качества жизни и уровня NT-proBNP.

*Ключевые слова:* натрийуретический пептид; неприлизин; сакубитрил; сердечная недостаточность с сохранной фракцией выброса

# EFFECT OF SACUBITRIL/VALSARTAN ON SYSTEMIC MARKERS OF INFLAMMATION AND FIBROSIS DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH HFpEF AND ADVANCED LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY

Gvozdeva A.D.[1], Filatova A.Yu.[1], Svirida O.N.[1], Sobolevskaya M.S.[1], Zakiev V.D.[2],Ageeva S.F.[3], Masenko V.P.[1], Ageev F.T.[1], Ovchinnikov A.G.[1]

[1]*National Medical Research Center of Cardiology named after academician E.I. Chazov, 15a, Chazov St., 121552, Moscow, Russia*

[2]*Pirogov Russian National Research MedicalUniversity, Russian Clinical and Research Center of Gerontology, 16, 1st Leonova St., 129226, Moscow, Russia*

[3]*Lomonosov Moscow State University, 1, Leninskie Gory, 119991, Moscow, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To assess the effect of angiotensin receptor-neprilysin inhibitor sacubitril/valsartan (S/V) on markers of inflammation and fibrosis,clinical status andleft ventricular (LV) diastolic functionin patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and advanced concentric LV hypertrophy (LVH).

**Methods.** The open-label, prospective study included 61 patients with HFpEF in NYHA functional class II-III and moderate/severe hypertensive concentric LVH (LV mass index ≥132 g/m2 for men or ≥109 g/m2 for women). The participants were randomized to receive S/V (100-400 mg/day, n=30) or individualized therapy (that includes ACE inhibitors or ARBs, n=31) for 6 months. All patients underwent an echocardiographic study, assessment of quality of life, a 6-minute walk test (6MWD) and assessment of pro-inflammatory (high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)) and pro-fibrotic markers (C-terminal type I procollagen propeptide (PICP), N-terminal type III procollagen propeptide (PIIINP), growth differentiation factor-15 (GDF-15), galectin-3, soluble ST2 (sST2), osteopontin), NT-proBNP at baseline and after 6 months.

**Results.** After 6 months, S/V showed an increase in 6MWD and a decrease in the Minnesota Quality of Life Questionnaire scores ($p < 0.05$ compared to the control group). S/V showed a decreasein LV mass index, LA volume and E/e' ratio ($p < 0.05$). After 6 months of taking S/V, there was a decrease in hsCRP level (by 28% [-54; -16]; % $p < 0.001$), osteopontin (by 17 % [-63 – -3] %; p=0.046) and NT- proBNP (by 27% [-43 – -24] %; $p < 0.001$) levels compared with the control group. There was an inverse correlation between hsCRP level and 6MWD (r=-0.44; p=0.002); positive correlation between hsCRP level and Minnesota Quality of Life Questionnaire score (r=0.35; p=0.013) and NT-proBNP (r=0.44; p=0.001).

**Conclusions.** In patients with HFpEF and advanced LV hypertrophy, treatment with S/V was associated with an improvement in exercise capacity and quality of life, a decrease in LV myocardial mass and an improvement in LV diastolic function, as well as a decrease in NT-proBNPlevel. The positive clinical and hemodynamic effects of sacubitril/valsartan may be associated with the anti-inflammatory and antifibrotic effects because treatment with S/Vwas associated with a decrease inhsCRP andosteopontin levels. Changes in hsCRP correlated with changes in 6MWD, quality of life, and NT-proBNP level.

*Keywords:* neprilysin; natriuretic peptide; sacubitril; heart failure with preserved ejection fraction

## Введение

На сегодняшний день более половины пациентов с сердечной недостаточностью (СН) имеют сохраненную фракцию выброса левого желудочка (СНсФВ), распространенность которой ежегодно растет по мере старения населения. Несмотря на значимость СНсФВ, возможности эффективной терапии этого состояния ограничены, что во многом связано с гетерогенностью пациентов с СНсФВ [1].

Известно, что СНсФВ является полиорганным синдромом, возникающим на фоне сопутствующих заболеваний, таких как ожирение, сахарный диабет (СД) 2 типа, артериальная гипертензия (АГ), хроническая болезнь почек (ХБП). Эти заболевания наряду с пожилым возрастом индуцируют и поддерживают хроническое системное воспаление в организме, затрагивающее миокард, скелетные мышцы, легочную сосудистую систему и др. [3]. При этом подавляющее большинство пациентов с СНсФВ страдают от одышки из-за резкого повышения давления наполнения левого желудочка(ЛЖ) во время физической нагрузки, которое является следствием диастолической дисфункции ЛЖ из-за нарушения расслабления и повышения жесткости ЛЖ [1].

Одну из ключевых ролей в поддержании нормальной диастолической функции ЛЖ играет протеинкиназа G (PKG), активация которой способствует улучшению расслабления, повышению

податливости ЛЖ, уменьшению фиброза миокарда и гипертрофии кардиомиоцитов. Натрийуретические пептиды (НУП) повышают активность PKG, однако их биодоступностьпри СНсФВ крайне низка. В основном это обусловлено наличием у пациентов концентрической ГЛЖ (уменьшающей выработку НУП) и ожирения и СД 2 типа (увеличивающих их элиминацию) [4].

Преодолеть проблему низкой биодоступности НУП возможно с помощью ингибитора неприлизина/блокатора ангиотензиновых рецепторов сакубитрила/валсартана, обладающего рядом плейотропных эффектов, оказывающих положительное влияние при СНсФВ [2, 3].

В ряде исследований была отмечена способность сакубитрила/валсартана снижать уровень профибротических маркеров при СН как со сниженной, так и с сохраненной фракцией выброса (ФВ) ЛЖ [10, 16]. Кроме того, в экспериментальных работах при СНсФВ была выявлена противовоспалительная активность сакубитрила/валсартана[14]. Однако в клинических исследованиях влияние препарата на маркеры воспаления оценивалось только при СН со сниженной ФВ ЛЖ (СНнФВ), но не при СНсФВ [8, 22].

Целью исследования явилась оценка влияния сакубитрила/валсартана на клинический статус, систолическую и диастолическую функцию обоих желудочков, уровень растворимых маркеров воспаления и фиброза, концентрацию NT-proBNP в крови, а также анализ связи между изменением клинических и эхокардиографических параметров и уровнями биомаркеров у пациентов с СНсФВ и выраженной гипертонической ГЛЖ.

## Методика

Настоящее рандомизированное контролируемое открытое одноцентровое исследование было проведено в Отделе амбулаторных лечебно-диагностических технологий Национального медицинского исследовательского центра кардиологии имени академика Е.И. Чазова.

В исследование были включены пациенты с умеренной/выраженной ГЛЖ (индекс массы ЛЖ ≥132 г/м$^2$ у мужчин или ≥109 г/м$^2$ у женщин), верифицированной стабильной СН II-III функционального класса (по классификации Нью-Йоркской Ассоциации сердца, NYHA) и сохранённой ФВ ЛЖ (>50%). Диагноз СНсФВ был установлен, согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества, на основании симптомов и признаков СН в сочетании со структурными и/или функциональными нарушениями сердца и/или повышенным уровнем NT-proBNP>125 пг/мл [17]. Поскольку на сегодняшний день доказано, что у многих пациентов с СНсФВ уровень NT-proBNP может быть ниже диагностического порога, повышение концентрации NT-proBNP не рассматривалось в качестве обязательного критерия включения. Однако в случае более низкого уровня NT-proBNP (<125 пг/мл), верификация диагноза осуществлялась путем обнаружения повышения давления наполнения (ДН) ЛЖ во время диастолического стресс теста (ДСТ).

В исследование не включались пациенты, которым в силу разных причин не представлялось возможным выполнить нагрузочный тест, а также пациенты с постоянной формой трепетания или фибрилляции предсердий, значимым поражением клапанов сердца (более чем незначительным стенозом или более чем умеренной регургитацией), признаками ишемии миокарда во время ДСТ, ХБП 4-5 ст, иными причинами СНсФВ (инфильтративные заболевания миокарда, гипертрофическая кардиомиопатия и др).

Все участники исследования подписали информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» (11/2019).

В период с февраля 2018 г. по октябрь 2021 г. в исследование был включен 61 участник. Пациенты были рандомизированы в 2 группы: группу приёма сакубитрила/валсартана в максимально переносимой дозе (до 400 мг/сут; n=30) или группу индивидуально подобранной медикаментозной терапии, включающей ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) или блокатор ангиотензиновых рецепторов (БАР) в максимально переносимой дозе (группу сравнения, n=31) сроком на 24 недели. Как исследователи, так и пациенты были проинформированы о назначенном лечении.

Помимо исследуемых препаратов все пациенты принимали средства стандартной терапии по поводу СН (табл. 1), которая оставалась стабильной на протяжении по меньшей мере 1 месяца до начала исследования. Титрация дозы препаратов в обеих группах проводилась с интервалом в 2

недели под контролем клинического состояния, артериального давления (АД), уровня калия и креатинина в крови.

Всем пациентам исходно и через 6 месяцев проводилась оценка клинического состояния, эхокардиографическое исследование в покое и при нагрузке (ДСТ), определение уровня биомаркеров.

Образцы крови брали исходно до включения в исследование, а также через 6 месяцев на фоне приёма исследуемых препаратов. Анализировались уровни маркеров гемодинамического стресса (NT-proBNP), воспаления (С-реактивный белок, определенный высокочувствительным методом (вчСРБ), моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1)) и фиброза (С-концевой пропептидпроколлагена типа I (PICP), N-концевой пропептидпроколлагена типа III (PIIINP), ростовой фактор дифференциации-15 (GDF-15), галектин-3, растворимый ST2 (sST2), остеопонтин).

Концентрации биомаркеров измеряли в сыворотке крови пациентов. Уровни NT-proBNP измеряли с помощью автоматизированного электрохемилюминесцентного иммуноанализа (Roche Diagnostics, Германия). Количественное определение уровня вчСРБ проводили иммунонефелометрическим методом с латексным усилением с помощью автоматического анализатора BN ProSpec производства («Dade-Behring», Германия) при использовании реагента Cardio Phasehs CRP («Siemens», США). Анализ остальных биомаркеров (MCP-1, PICP, PIIINP, GDF-15, галектин-3, sST2, остеопонтин) проводили с использованием иммуноферментного анализа (ELISA) согласно протоколу производителей.

Эхокардиографическое исследование было выполнено на ультразвуковых аппаратах Vivid S-70 и Vivid E95 (GE Healthcare, Норвегия). Для повышения точности измерений усредняли значения, полученные в 3 и более последовательных сердечных циклах. В ходе исследования определяли структурные и функциональные показатели сердца, допплеровские показатели диастолической функции ЛЖ, показатели лёгочной гемодинамики согласно действующим рекомендациям [13].

Объёмы камер сердца и ФВ рассчитывали методом Симпсона. Значения массы миокарда ЛЖ и максимального объёма ЛП индексировали к площади поверхности тела. Массу миокарда ЛЖ определяли линейным методом по формуле куба [13]. Диастолическую функцию ЛЖ оценивали с помощью импульсного доплеровского исследования трансмитрального кровотока (МК), а также тканевого доплеровского исследования. Тяжесть диастолической дисфункции ЛЖ определяли на основании критериев Американского эхокардиографического общества от 2016 года [15].

Статистический анализ проводился с использованием стандартного программного обеспечения (MedCalc, версия 19.5.3). Данные представлены в виде медианы (интерквартильного размаха) в связи с ненормальным распределением, категориальные переменные – в виде чисел и процентов наблюдений. Попарные межгрупповые различия определяли с помощью U-теста Манна-Уитни. По качественным признакам группы сопоставляли с помощью теста $\chi^2$. Различия между тремя группами по количественным переменным мы оценивали с помощью рангового дисперсионного анализа Kruskel-Wallis ANOVA. Корреляция между непрерывно распределенными переменными проверялась с помощью одномерного регрессионного анализа. Статистически значимым считалось значение $p<0,05$.

## Результаты исследования

Медиана возраста пациентов составила 67 [64; 69] лет, из них 57% составляли женщины. Большинство пациентов было с ожирением и многочисленными сопутствующими заболеваниями, такими как СД 2 типа, фибрилляция предсердий, ишемическая болезнь сердца и ХБП (табл. 1). Группы были сопоставимы по демографическим и гемодинамическим характеристикам и принимаемой терапии (табл. 1).

В группе сакубитрила/валсартана 4 пациента принимали препарат в дозе 100 мг в сутки, 7 пациентов – в дозе 200 мг и 19 пациентов – в дозе 400 мг в сутки; медиана дозы сакубитрила/валсартана составила 400 (200-400) мг в сутки. В группе сравнения 27 пациентов (87%) продолжили прием ранее назначенных БАР (валсартан – 89%, кандесартан – 7%, лозартан – 4%), 4 пациента (13%) продолжили прием иАФП (эналаприл – 50%, периндоприл – 50%). Медиана дозы валсартана составила 240 (160-320) мг в сутки.

В группе сакубитрила/валсартана отмечалось значимое снижение систолического и диастолического АД, однако при сравнении динамики между группами значимых различий

выявлено не было (табл. 2). За время исследования в обеих группах концентрация креатинина и калия в крови значимо не изменилась.

Таблица 1. Исходные характеристики пациентов

| Показатель | Сакубитрил/валсартан (n=30) | Группа сравнения (n=31) | Величина P |
|---|---|---|---|
| Возраст, лет | 67,5 [64,2; 70] | 65 [64; 68,7] | 0,44 |
| Мужской пол, n (%) | 13 (43) | 13 (42) | 0,91 |
| NYHA II/III, n (%) | 22/8 (73/27) | 23/8 (74/26) | 0,94 |
| 6-минутный тест ходьбы, м | 407 [331; 467] | 386 [340; 420] | 0,25 |
| Систолическое АД, мм рт.ст. | 140 [130; 150] | 139 [130; 140] | 0,84 |
| Диастолическое АД, мм рт.ст. | 90 [80; 90] | 85 [80; 90] | 0,57 |
| ЧСС, $мин^{-1}$ | 61 [59; 65] | 65 [58; 72] | 0,15 |
| Индекс массы тела, $кг/м^2$ | 32,2 [29,4; 36,7] | 32,0 [28,5; 36,3] | 0,68 |
| Избыточная масса тела/ожирение[а], n (%) | 29 (97) | 29 (94) | 0,58 |
| Артериальная гипертония[б], n (%) | 30 (100) | 31 (100) | 1,0 |
| Пароксизмальная мерцательная аритмия, n (%) | 6 (20) | 6 (19) | 0,92 |
| ИБС, n (%) | 12 (40) | 7 (23) | 0,15 |
| Сахарный диабет, n (%) | 11 (37) | 10 (32) | 0,72 |
| Хроническая болезнь почек[в], n (%) | 8 (27) | 7 (23) | 0,71 |
| Расчётная СКФ, мл/мин/1,73 м2 | 78 [64; 86] | 77 [72; 89] | 0,75 |
| NT-proBNP, пг/мл | 226 [148; 359] | 203 [86; 311] | 0,49 |
| вчСРБ, мг/л | 1,7 [1; 4,9] | 1,2 [0,7; 3,2] | 0,24 |
| вчСРБ> 2 мг/л, n (%) | 14 (47) | 8 (26) | 0,093 |
| Принимаемая терапия: | | | |
| Ингибиторы АПФ/БАР, n (%) | 30 (100) | 31 (100) | 1,0 |
| β-блокаторы, n (%) | 21 (70) | 17 (55) | 0,23 |
| Диуретики, n (%) | 16 (53) | 15 (48) | 0,70 |
| Спиронолактон, n (%) | 10 (33) | 8 (26) | 0,52 |
| Антагонисты кальция, n (%) | 20 (67) | 20 (65) | 0,86 |
| Статины, n (%) | 28 (93) | 26 (84) | 0,25 |
| Ингибиторы SGLT2, n (%) | 8 (27) | 8 (26) | 0,94 |
| Эхокардиографические параметры: | | | |
| Фракция выброса ЛЖ, % | 63 [55; 67] | 62 [58; 65] | 0,93 |
| Индекс массы миокарда, $г/м^2$ | 125 [115; 142] | 128 [118; 143] | 0,88 |
| Индекс объёма ЛП, $мл/м^2$ | 43,5 [39,5; 49,6] | 40,6 [36,6; 49,2] | 0,29 |
| Митральное соотношение E/e′ | 13,2 [12; 17,9] | 14,1 [11; 16,9] | 0,59 |
| Диастолическая дисфункция ЛЖ, степень, n (%):<br>I<br>II<br>III | <br>9 (30)<br>20 (67)<br>1 (3) | <br>12 (39)<br>19 (61)<br>0 (0) | 0,49 |
| Легочная гипертензия[г], n (%) | 18 (60) | 13 (42) | 0,16 |

Примечания: данные представлены в виде медианы [межквартильный разброс] для количественных переменных и в процентах для категориальных переменных. а – индекс массы тела ≥ 25 кг/м2; б – АД ≥ 140/90 рт.ст. мм; в – рСКФ< 60 мл/мин/1,73 м2; г – систолическое давление в легочной артерии > 35 мм рт.ст. иАПФ, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента; БАР, блокатор ангиотензиновых рецепторов; АД, артериальное давление; E – скорость раннего наполнения ЛЖ; e′ – средняя скорость смещения митрального кольца; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; СНсФВ - сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса; ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка; ЛП - левое предсердие; ЛЖ – левый желудочек; ИБС – ишемическая болезнь сердца; NT-proBNP – N-концевой промозговой натрийуретический пептид; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; SGLT2 – натрий-глюкозный котранспортер-2

Через 6 месяцев прием сакубитрила/валсартана сопровождался значимым увеличением дистанции 6-МТХ, тогда как в группе сравнения дистанция 6-МТХ незначительно уменьшилась; p <0,001 при сравнении различий между группами. Помимо этого, в группе приема сакубитрила/валсартана наблюдалось улучшение качества жизни (уменьшение количества баллов Миннесотского опросника качества жизни) в то время, как в группе сравнения значимых изменений выявлено не было (табл. 2).

Через 6 месяцев в группе сакубитрила/валсартана отмечалось снижение индекса массы ЛЖ, соотношения E/e' (во всех случаях p<0,05 при сравнении различий между группами, табл. 2) по

данным эхокардиографии. Значимых изменений объемов/сократимости ЛЖ и правых камер сердца в обеих группах не выявлено.

Таблица 2. Динамика клинических, лабораторных и эхокардиографических показателей в исследуемых группах в течение периода наблюдения

| Показатели | Сакубитрил/валсартан (n=30) | | Группа сравнения (n=31) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Исходная величина | Δ исходной величины (95% ДИ) | Исходная величина | Δ исходной величины (95% ДИ) | P для сравнения исходных величин | P для сравнения Δ исходной величины |
| Систолическое АД, мм рт.ст. | 140 [130; 150] | -5 [13; 0]* | 139 [130; 140] | 0 [-5; 3] | 0,84 | 0,16 |
| Диастолическое АД, мм рт.ст. | 90 [80; 90] | -5 [-10; 0]* | 85 [80; 90] | 0 [-5; 0] | 0,57 | 0,19 |
| ЧСС, уд/мин | 61 [59; 65] | 0 [-3; 3] | 65 [58; 72] | 2 [-4; 6] | 0,15 | 0,52 |
| 6-минутный тест ходьбы, м | 407 [331; 467] | 17 [9; 25]** | 386 [340; 420] | -6 [-14; 3] | 0,25 | 0,0004 |
| Миннесотский опросник, баллы | 26 [17; 44] | -4 [-7; -2]** | 25 [14; 34] | 1 [-2; 2] | 0,46 | 0,005 |
| Калий, ммоль/л | 4.4 [4.2; 4.9] | 0,1 [-0,2; 0,3] | 4,4 [4,1; 4,6] | 0,1 [-0,1; 0,3] | 0,29 | 0,36 |
| Креатинин, мкмоль/л | 73 [69; 91] | -2 [-7; 2]* | 77 [72; 90] | 3 [-2; 9] | 0,65 | 0,054 |
| Индекс массы ЛЖ, г/м$^2$ | 125 [115; 142] | -12 [-16; -6]** | 128 [118; 143] | -4 [-9; 1] | 0,40 | 0,034 |
| Индекс объёма ЛП, мл/м$^2$ | 43,5 [39,5; 49,6] | -2,4 [-4,2; -0,7]** | 40,6 [36,6; 49,2 | 0,7 [-1,9; 3,5] | 0,29 | 0,023 |
| Фракция выброса ЛЖ, % | 63 [55; 67] | 1 [-3,1; 3,1] | 62 [58; 65] | 0,9 [-0,6; 4,4] | 0,93 | 0,63 |
| $E/e'_{МК}$ | 13,2 [12; 17,9] | -2 [-3,2; -0,8]** | 14,6 [11,5; 18,1 | -0,4 [-1,3; 1,1] | 0,80 | 0,049 |

Исходные данные представлены в виде медианы (интерквартильного размаха). Динамика показателей представлена в виде изменения в абсолютных цифрах. * – P<0,05, ** – P<0,01 по сравнению с исходным уровнем (внутригрупповые различия). Условные обозначения: АД – артериальное давление; ЛП – левое предсердие; ЛЖ – левый желудочек; $E/e'_{МК}$ – митральное соотношение E/e'; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии

Через 6 месяцев в группе приема сакубитрила/валсартана отмечалось уменьшение концентрации NT-proBNP в крови на 27% [-43; -24%]; p <0,001) от исходного уровня; в группе сравнения, наоборот, содержание пептида незначительно увеличилось (4% [0,1; 13%], p=0,039) (P<0,001 между группами). В группе сакубитрила/валсартана по сравнению с группой сравнения через 6 месяцев наблюдалось снижение уровня вчСРБ (на 28% [-54; -16%]; p<0,01), в группе контроля уровень СРБ незначительно увеличился (на 3% [-9; 20%]; p=0,42) (p<0,001 между группами, рис. 2).

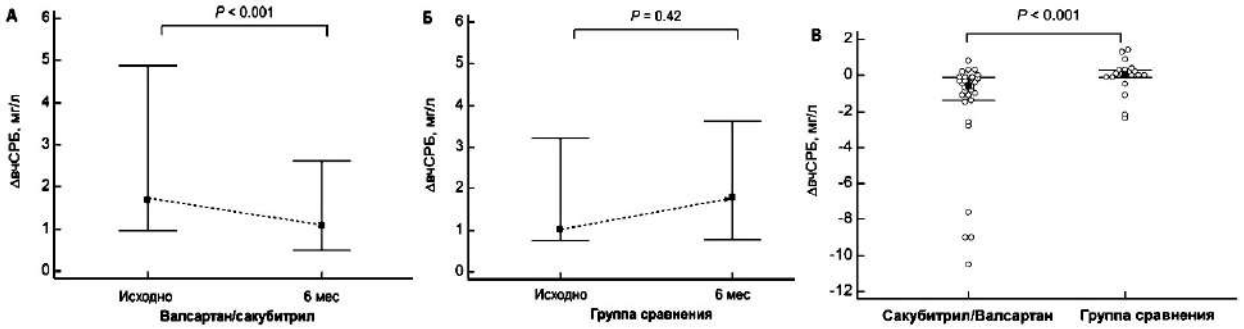



Рис. 1. Изменение уровня вчСРБ в группах сакубитрила/валсартана (А) и сравнения (Б) за 6 месяцев исследования, сопоставление изменения уровня вчСРБ между группами (В)

Чем выше была исходная концентрация вчСРБ, тем более выраженное снижение показателя наблюдалось в ходе лечения в обеих группах, хотя корреляция была сильнее в группе

сакубитрила/валсартана (r=0,89 и r=0,66, соответственно; p=0,047 для сравнения корреляций; рис. 3).

Исходная концентрация вчСРБ коррелировала с исходным уровнем NT-proBNP (r=0,41, P=0,003). Кроме того, была выявлена связь между изменением содержания NT-proBNP и вчСРБ за 6 месяцев наблюдения (r=0.44, P=0.0012). Обнаружена отрицательная взаимосвязь между изменением уровня вчСРБ и дистанции 6-минутной ходьбы (r=-0,44; p=0,002), положительная – между изменением уровня вчСРБ и количества баллов Миннесотского опросника качества жизни (r=0,35; p=0,013).

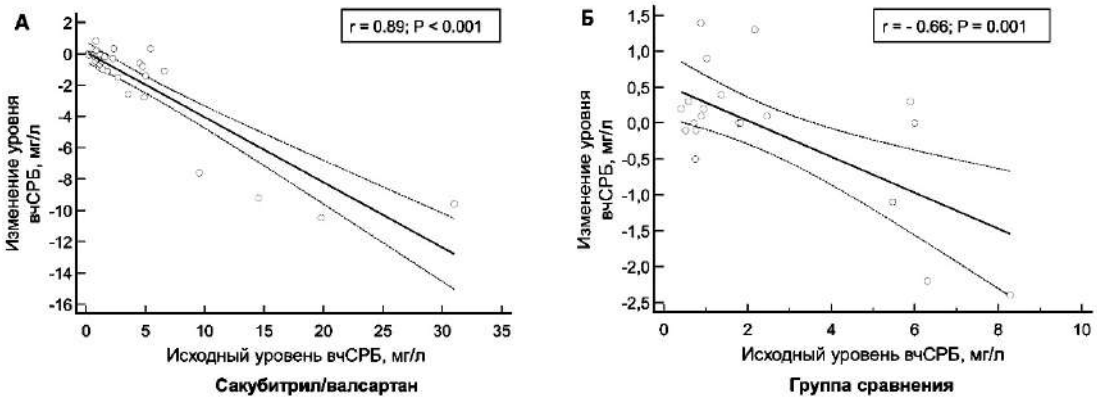



Рис. 2. Взаимосвязь динамики уровня вчСРБ в крови с исходной величиной в группах сакубитрила/валсартана (А) и сравнения (Б)

В группе сакубитрила/валсартана наблюдалось снижение остеопонтина (на 4,4 [-69; -0,1] нг/мл; p=0,039), в группе сравнения содержание в крови остеопонтина увеличилось (на 1,2 [-2,6; 4,3]; p=0,49), p=0,046 для различий между группами. Значимых различий по динамике уровня MCP-1, GDF-15, PIIINP, PICP, галектина-3 и sST2 между группами не выявлено (табл. 3).

Таблица 3. Динамика уровня биомаркеров в исследуемых группах в течение периода наблюдения

| Показатели | Сакубитрил/валсартан (n=30) | | Группа сравнения (индивидуально подобранная терапия) (n=31) | | | P для сравнения Δ исходной величины |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Исходная величина | Δ исходной величины (95% ДИ) | Исходная величина | Δ исходной величины (95% ДИ) | P для сравнения исходных величин | |
| NT-proBNP, пг/мл | 226 [148; 359] | -81 [-143; -54]** | 203 [86; 311] | 20 [1; 121] | 0,49 | <0,001 |
| вчСРБ, мг/л | 1,7 [1; 4,9] | -0,7 [-1,6; -0,4]** | 1,2 [0,7; 3,2] | 0,1 [-0,3; 0,3] | 0,24 | <0,001 |
| MCP-1, пг/мл | 677 [349; 770] | -22 [-76; 106] | 669 [320; 788] | 7 [-41; 111] | 0,99 | 0,33 |
| GDF-15, пг/мл | 1202 [976; 1683] | -76 [-234; 70] | 1200 [975; 1591] | 33 [-133; 122] | 0,95 | 0,28 |
| PIIINP, пг/мл | 20,1 [13,8; 30,3] | -0,3 [-2,6; 2,4] | 23,9 [18,5; 40,2] | 0,4 [-5,6; 2,4] | 0,19 | 0,99 |
| Галектин-3, нг/мл | 14,3 [11,3; 18] | -0,3 [-1,5; 1,1] | 18,7 [15,8; 37,6] | 0,4 [-0,8; 1,3] | 0,011 | 0,26 |
| PICP, пг/мл | 53 [42; 108] | -6 [-15; 10] | 65 [42; 87] | -7 [-38; 1] | 0,53 | 0,20 |
| sST2, нг/мл | 22,5 [17,2; 28,5] | -0,6 [-1,4; 0,5] | 23,4 [18,2; 26,9] | 0,6 [-0,8; 2] | 0,76 | 0,21 |
| Остеопонтин, нг/мл | 14,3 [7,7; 23,2] | -4,4 [-9,5; -0,1]* | 14,9 [7,3; 27,6] | 1,2 [-2,6; 4,3] | 0,93 | 0,046 |

Исходные данные представлены в виде медианы (интерквартильного размаха). * P<0,05, ** P<0,01 по сравнению с исходным уровнем (внутригрупповые различия). Условные обозначения: NT-proBNP – N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида; вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; PICP – С-концевой пропептидпроколлагена типа I; PIIINP – N-концевой пропептидпроколлагена типа III; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; GDF-15–ростовой фактор дифференциации-15; sST2 – растворимый фактор ST2

Был выполнен подгрупповой анализ с сопоставлением клинических и гемодинамических эффектов сакубитрила/валсартана в зависимости от выраженности провоспалительного статуса (в

подгруппах пациентов с уровнем вчСРБ выше и ниже медианы). В рамках проведенного анализа не было выявлено достоверных различий между группами по влиянию сакубитрила/валсартана на дистанцию 6-МТХ, качество жизни, индекс массы миокарда ЛЖ, митральное соотношение E/e', индекс максимального объёма ЛП, расчётное СДЛА и уровень NT-proBNP (табл. 4).

Таблица 4. Динамика клинических показателей, эхокардиографических показателей и биомаркеров на фоне 6-месячного приёма сакубитрила/валсартана у пациентов ГЛЖ и СНсФВ в зависимости от уровня вчСРБ (> или ≤ медианы в 1,7): данные подгруппового анализа

| Показатели | Исходная величина | Δ исходной величины (95% ДИ) | P для сравнения с исходной величиной | Interaction-P |
|---|---|---|---|---|
| 6-минутный тест ходьбы, м<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 383 [308; 461]<br>425 [374; 466] | +18 (8; 29)<br>+16 (4; 28) | 0,005<br>0,023 | 0,35 |
| Миннесотский опросник, баллы<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 26 [18; 40]<br>26 [15; 50] | -4 [-10; -1]<br>-4 [-7; -1] | 0,012<br>0,016 | 0,79 |
| Индекс массы ЛЖ, г/м2<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 122 [111; 142]<br>128 [120; 143] | -13 [-19; -4]<br>-10 [-17; -4] | 0,003<br>0,03 | 0,60 |
| E/e′МК<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 13,5 [12,4; 19,6]<br>12,6 [11; 12,5] | -2,6 [-4,2; -0,8]<br>-1,5 [-3; -0,1] | 0,003<br>0,19 | 0,39 |
| Индекс объёма ЛП, мл/м2<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 41 [37,8; 47,1]<br>44,7 [41,1; 50,3] | -2,3 [-4,3; -0,01]<br>-2,6 [-7,2; -0,2] | 0,048<br>0,03 | 0,85 |
| Расчетное СДЛА, мм рт.ст.<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 39 [35; 43]<br>35 [31; 40] | -6 [-11; -0,2]<br>-4 [-7; -0,3] | 0,03<br>0,03 | 0,42 |
| NT-proBNP, пг/мл<br>вчСРБ> медианы<br>вчСРБ ≤ медианы | 306 [221; 503]<br>207 [120; 251]* | -39% (-62%; -26%)<br>-25% (-40%; -18%) | <0,001<br>0,002 | 0,14 |

Исходные данные представлены в виде медианы (интерквартильного размаха). Динамика показателей представлена в виде изменения в абсолютных цифрах. *P<0,05, **P<0,01 по сравнению с исходной величиной в подгруппе верхнего квантиля. Условные обозначения: вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ЛЖ – левый желудочек; E/e′МК - митральное соотношение E/e′; ЛП – левое предсердие; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; NT-proBNP- N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида

## Обсуждение результатов исследования

В настоящем исследовании было показано, что пациентов с выраженной гипертонической ГЛЖ, осложнившейся развитием СНсФВ, сакубитрил/валсартан значимо снижал уровень провоспалительного маркера вчСРБ, профибротического маркера остеопонтина по сравнению с иАПФ/БАР. Кроме того, сакубитрил/валсартан значимо улучшал функциональные возможности (увеличивал дистанцию 6-МТХ) и качество жизни данной категории пациентов, уменьшал выраженность гипертрофии ЛЖ и улучшал диастолическую функцию ЛЖ по данным эхокардиографии.

Известно, что хроническое системное воспаление играет важную роль в процессах ремоделирования миокарда, а также развитии и прогрессировании СНсФВ [3, 17]. У пациентов с СНсФВ наблюдался более высокий уровень маркеров воспаления (вчСРБ, GDF-15, ИЛ-6, ФНО и др) в крови, по сравнению с пациентами с СНнФВ [18]. В нескольких работах была показана связь между повышенным уровнем вчСРБ в крови и неблагоприятным прогнозом при СНсФВ, в том числе после поправки на уровни НУП [12, 21].

Повышенная активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) является одним из ключевых факторов, стимулирующих провоспалительные и профибротические сигнальные пути,

способствующих развитию эндотелиальной дисфункции, гипертрофии кардиомиоцитов и клиническому ухудшению СНсФВ. В клинических исследованиях показано уменьшение выраженности воспаления (снижение экспрессии молекул адгезии эндотелиальными клетками и уровня провоспалительных маркеров в крови, таких как вчСРБ, интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей (ФНО), MCP-1) и окислительного стресса на фоне приема ингибиторов РААС пациентами с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями [6, 11]. Противовоспалительный эффект блокаторов РААС был описан в отношении ряда иАПФ и сартанов. По данным метаанализа 32 рандомизированных клинических исследований именно для иАПФ было характерно значимое снижение уровней вчСРБ, ИЛ-6 и ФНО в крови, тогда как БАР оказались эффективны только в отношении снижения ИЛ-6 [6]. При этом на сегодняшний день ни один ингибитор РААС не доказал своей эффективности по влиянию на прогноз при СНсФВ [19].

Ранее у пациентов с СНнФВ была продемонстрирована противовоспалительная активность сакубитрила/валсартана. Например, по данным Cassano V и соавт. шестимесячный прием сакубитрила/валсартана при СНнФВ сопровождался снижением уровня провоспалительных маркеров в крови (ИЛ-6, ФНО, вч-СРБ), а также маркеров оксидативного стресса и активации тромбоцитов [8]. Goncalves A и соавт. отмечено снижение концентрации вчСРБ и количества лейкоцитов в крови у пациентов с СНнФВ [22]. В нашем исследовании прием сакубитрила/валсартана сопровождался более выраженным снижением уровня провоспалительного маркера вчСРБ по сравнению с группой приема иАПФ/БАР.

Стоит отметить, что чем выше была концентрация вчСРБ исходно, тем более выраженное снижение параметра наблюдалось в ходе лечения в обеих группах. Изменение концентрации вчСРБ было связано с изменением дистанции 6-МТХ и качества жизни, а также уровня NT-proBNP, что подчеркивает роль противовоспалительных свойств сакубитрила/валсартана в реализации положительных клинических эффектов препарата.

Фиброз миокарда играет важную роль в патогенезе СНсФВ, что подтверждено клиническими и экспериментальными исследованиями. Кроме того, выраженность фиброза коррелирует с увеличением частоты аритмий, госпитализаций и смертностью при СНсФВ [20]. Антифибротический эффект сакубитрила/валсартана был отмечен в ряде экспериментальных исследований. Так, на модели СНсФВ у крыс с ожирением применение препарата сопровождалось уменьшением массы миокарда и жесткости ЛЖ, снижением уровня профибротических маркеров [9, 16]. В исследовании PARADIGM-HF у пациентов с СНнФ Всакубитрил/валсартан превосходил эналаприл по влиянию на уровни профибротических маркеров (PIINP, PICP, альдостерона, pST2, тканевого ингибитора металлопротеиназы-1, галектина-3) в крови [23]. Согласно результатам исследования PARAGON-HF, приём сакубитрила/валсартана у пациентов с СНсФВ ассоциировался со снижением уровня маркеров фиброза и повышением уровня маркеров деградации коллагена в крови, по сравнению с валсартаном [10]. Вероятно, более выраженный антифибротический эффект сакубитрила/валсартана связан с увеличением биодоступности НУП и, как следствие, увеличением внутриклеточного уровня циклического гуанозинмонофосфата и активацией PKG [23]. В работе Burke RM также было показано, что сакубитрил/валсартан за счет стимуляции PKG ингибировал активацию миофибробластов в ответ на профибротические стимулы, тем самым оказывая дополнительный антифибротический эффект [7].

В нашем исследовании в группе приема сакубитрила/валсартана было выявлено значимое снижение уровня профибротического маркера остеопонтина, по сравнению с группой иАПФ/БАР. Остеопонтин представляет собой белок, участвующий в передаче сигналов между кардиомиоцитами и компонентами внеклеточного матрикса, регуляции ангиогенеза и репарации тканей, способствующий превращению фибробластов в миофибробласты и синтезу белков внеклеточного матрикса. Повышенная экспрессия остеопонтина связана с прогрессированием фиброза иувеличением риска развития СН [5]. В исследовании Tromp J. и соавт, продемонстрирована прогностическая ценность остеопонтина в отношении смертности от всех причин и риска повторных госпитализаций по поводу СН в течение 18 месяцев при СНсФВ, но не при СНнФВ [21].

В нашем исследовании не было выявлено значимых различий между группами в отношении других исследуемых профибротических маркеров. Возможно, это связано с относительно небольшим числом пациентов, включенных в исследование. Нельзя исключить, что у пациентов с выраженной ГЛЖ и СНсФВ механизм действия сакубитрила/валсартана связан не с прямым воздействием на профибротические пути, а с влиянием на другие звенья патогенеза, играющие роль при СНсФВ (в частности, воспаление).

Следует отметить, что наше исследование имело ряд ограничений, основными среди которых являлись небольшое количество пациентов и особенности дизайна исследования, связанные с его открытым характером. Тем не менее, полученные результаты позволяют предположить, что

сакубитрил/валсартан у пациентов с выраженной гипертонической ГЛЖ и СНсФВ за счет увеличения биодоступности НУП может оказывать дополнительный противовоспалительный и противофибротический эффекты по сравнению сиАПФ/БАР. Для уточнения механизмов и оценки прогностической значимости данных эффектов препарата у пациентов с СНсФВ и ГЛЖ необходимо проведение дальнейших рандомизированных многоцентровых клинических исследований.

## Заключение

У пациентов с СНсФВ и выраженной концентрической ГЛЖ прием сакубитрила/валсартана сопровождался улучшением функциональных возможностей (увеличением дистанции 6-МТХ) и качества жизни, уменьшением массы миокарда ЛЖ, улучшением диастолической функции ЛЖ, а также снижением уровня NT-proBNP. Положительные клинические и гемодинамические эффекты сакубитрила/валсартана могут быть связаны с противовоспалительными и антифибротическими эффектами препарата, поскольку его прием сопровождался снижением концентрации ключевых растворимых маркеров воспаления (вчСРБ), фиброза (остеопонтин), а изменение вчСРБ коррелировало с изменением дистанции 6-МТХ, качества жизни и уровня NT-proBNP.

## Литература (references)


1. Агеев Ф.Т., Овчинников А.Г. Лечение пациентов с сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса: опора на клинические фенотипы // Кардиология. – 2022. – Т.62 – №7. – С. 44-53. [Ageev F.T., Ovchinnikov A.G. Treatment of patients with heart failure and preserved ejection fraction: reliance on clinical phenotypes. // Kardiologiia. – 2022. – V.62. – №7. – P. 44-53. (in Russian)]
2. Данилов А.И., Евсеев А.В., Евсеева М.А. и др. Сакубитрил/валсартан как компонент терапии хронической сердечной недостаточности // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2022. – Т.20. – №4. – С. 407-413. [Danilov A.I., Evseev A.V., Evseeva M.A. et al. Sacubitril/valsartan as a component of therapy for chronic heart failure // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2022. – V.20, N4. – P. 407-413. (in Russian)]
3. Овчинников А.Г., Арефьева Т.И., Потехина А.В. и др. Молекулярные и клеточные механизмы, ассоциированные с микрососудистым воспалением в патогенезе сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса // ActaNaturae. – 2020. – Т.12. – №2. – С. 40-51. [Ovchinnikov A.G., Arefieva T.I., Potekhina A.V., et al. The Molecular and Cellular Mechanisms Associated with a Microvascular Inflammation in the Pathogenesis of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction // ActaNaturae. – 2020. – V. 12, N2. – P. 40-51. (in Russian)]
4. Овчинников А.Г., Гвоздева А.Д., Бланкова З.Н. и др. Роль ингибиторов неприлизина в лечении сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса // Кардиология. – 2020. – Т.60 – №11. – С. 117-127. [Ovchinnikov A.G., Gvozdeva A.D., Blankova Z.N et al. The Role of Neprilysin Inhibitors in the Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction // Kardiologiia. – 2020. – V.60. – №11. – P. 117-127. (in Russian)]
5. Abdelaziz Mohamed I., Gadeau A.P., Hasan A. et al. Osteopontin: A Promising Therapeutic Target in Cardiac Fibrosis // Cells. – 2019. – V.8, N12. - P. 1558.
6. Awad K., Zaki M.M., Mohammed M. et al. Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration Group. Effect of the Renin-Angiotensin System Inhibitors on Inflammatory Markers: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials // Mayo Clinic Proceedings. – 2022. – V.97, N10. – P. 1808-1823.
7. Burke R.M., Lighthouse J.K., Mickelsen D.M., Small E.M. Sacubitril/Valsartan Decreases Cardiac Fibrosis in Left Ventricle Pressure Overload by Restoring PKG Signaling in Cardiac Fibroblasts // Circulation Heart Failure. – 2019. – V.12, N4. – P. e005565
8. Cassano V., Armentaro G., Magurno M. et al. Short-term effect of sacubitril/valsartan on endothelial dysfunction and arterial stiffness in patients with chronic heart failure // Frontiers in Pharmacology. – 2022. – V.13. – P. 1069828
9. Croteau D., Qin F., Chambers J.M. et al. Differential Effects of Sacubitril/Valsartan on Diastolic Function in Mice with Obesity-Related Metabolic Heart Disease // JACC: Basic to Translational Science. – 2020. – V.5, N9. – P. 916-927.

10. Cunningham J.W., Claggett B.L., O'Meara E. et al. Effect of Sacubitril/Valsartan on Biomarkers of Extracellular Matrix Regulation in Patients With HFpEF // Journal of the American College of Cardiology. – 2020. – V.76, N5. – P. 503-514.
11. Dandona P., Dhindsa S., Ghanim H., Chaudhuri A. Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade // Journal of Human HypertensioN – 2007. – V.21, N1. – P. 20-27.
12. Hage C., Michaëlsson E., Linde C. et al. Inflammatory Biomarkers Predict Heart Failure Severity and Prognosis in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Holistic Proteomic Approach // Circulation: Cardiovascular Genetics. – 2017. – V.10, N1. – P. e001633.
13. Lang R.M., Badano L.P., Mor-Avi V. et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging // Journal of the American Society of Echocardiography. – 2015. – V.28, N1. – P. 1-39.
14. Liang W., Xie B.K., Ding P.W. et al. Sacubitril/Valsartan Alleviates Experimental Autoimmune Myocarditis by Inhibiting Th17 Cell Differentiation Independently of the NLRP3 Inflammasome Pathway // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – V. 12. – P. 727838.
15. Nagueh S.F., Smiseth O.A., Appleton C.P. et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging // Journal of the American Society of Echocardiography. – 2016. – V.29. – N4. – P. 277-314.
16. Nordén E.S., Bendiksen B.A., Andresen H., et al. Sacubitril/valsartan ameliorates cardiac hypertrophy and preserves diastolic function in cardiac pressure overload // ESC Heart Failure. – 2021. – V.8, N2. – P. 918-927.
17. Paulus W.J., Zile M.R. From Systemic Inflammation to Myocardial Fibrosis: The Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Paradigm Revisited // Circulation Research. – 2021. – V.128, N10. – P. 1451-1467.
18. Sanders-van Wijk S, van Empel V, Davarzani N, et al. Circulating biomarkers of distinct pathophysiological pathways in heart failure with preserved vs. reduced left ventricular ejection fraction // European Journal of Heart Failure. – 2015. – V.17. – P. 1006-1014.
19. Shah S.J., Borlaug B.A., Kitzman D.W. et al. Research Priorities for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group Summary // CirculatioN – 2020. – V.141, N12. – P. 1001-1026.
20. Sweeney M., Corden B., Cook S.A. Targeting cardiac fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction: mirage or miracle? // EMBO Molecular Medicine. – 2020. – V.12, N10. – P. e10865.
21. Tromp J., Westenbrink B.D., Ouwerkerk W. et al. Identifying Pathophysiological Mechanisms in Heart Failure With Reduced Versus Preserved Ejection Fraction // Journal of the American College of Cardiology. – 2018. – V.72. – P. 1081-1090.
22. Valentim Goncalves A., Pereira-da-Silva T., Galrinho A. et al. C-reactive protein reduction with sacubitril-valsartan treatment in heart failure patients // American Journal of Cardiovascular Disease. – 2020. – V.10. - N3. – P. 174-181.
23. Zile M.R., O'Meara E., Claggett B. et al. Effects of Sacubitril/Valsartan on Biomarkers of Extracellular Matrix Regulation in Patients with HFrEF // Journal of the American College of Cardiology. – 2019. – V.73, N7. – P. 795-806.

**Информация об авторах**

*Гвоздева Анна Дмитриевна* – лаборант-исследователь лаборатории фиброза миокарда и сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail:gvozdevaannalech@gmail.com

*Филатова Анастатия Юрьевна* – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории фиброза миокарда и сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail: Anastasia.m088@yandex.ru

*Свирида Ольга Николаевна* – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории фиброза миокарда и сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail:olgasvirida@yandex.ru

*Соболевская Мария Сергеевна* – аспирант отдела амбулаторных лечебно-диагностических технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail:msobolevskaya95@mail.ru

*Закиев Вадим Дмитриевич* – младший научный сотрудник лаборатории клинической фармакологии и фармакотерапииОСП «Российский геронтологический научно-клинический центр» ФГАОУ ВПО «Российский

национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. E-mail: zakiev739@gmail.com

*Агеева София Фаильевна* – студент факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им/ М.В.Ломоносова». E-mail: son.ageeva13@gmail.com

*Масенко Валерий Павлович* – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail: massenko@mail.ru

*Агеев Фаиль Таипович* – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела амбулаторных лечебно-диагностических технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail: ftageev@gmail.com

*Овчинников Артём Германович* – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории фиброза миокарда и сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России. E-mail: artcardio@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.08.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616-001.8-072.7-053.2:371.95* 3.1.21 Педиатрия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.17 EDN: OJVXHY*

# ПОКАЗАТЕЛИ ЭЛЕКТОЭНЦЕФАЛОГРАФИИ ДЕТЕЙ, ВОСПИТЫВАЮЩИХСЯ В УЧРЕЖДЕНИЯХ СОЦИАЛЬНОЙ СФЕРЫ, ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКУЮ ВНУТРИУТРОБНУЮ ГИПОКСИЮ

**© Удовенко А.А., Шестакова В.Н., Евсеев В.А., Сосин Д.В., Глущенко В.А., Морозова А.А., Индюкова Е.Д., Лямец Л.Л.**

*Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Выявить особенности основных показателей при регистрации фоновой ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, проживающих в учреждениях социальной сферы ля несовершеннолетних, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию в антенатальном периоде.

**Методика.** В исследовании приняли участие обучающие начального этапа общего образования (n=75). Из них 45 детей составили основную группу наблюдения, которые в антенатальном периоде испытывали хроническую гипоксию. В группу сравнения вошли дети, которые не имели хронической внутриутробной гипоксии плода (ХВУГ). Регистрацию фоновой ЭЭГ проводили при помощи электроэнцефалографа «Мицар-ЭЭГ-202». Для анализа данных фоновой ЭЭГ использовались участки без наличия артефактов, которые разбивались на эпохи по 2,56 секунд, при общей длительности не менее 30 секунд. Для обследуемых групп были определены значения относительной мощности ЭЭГ. Математическая обработка материалов проводилась с использованием прикладных программ на персональном компьютере.

**Результаты.** В результате обследования были определены основные показатели альфа, бета, дельта и тета-ритмов фоновой ЭЭГ в основной группе наблюдения и группе сравнения. Установлено, что показатели максимальной и средней амплитуды альфа-ритма в левых и правых отведениях в обеих группах наблюдения находилось в пределах нормальных значений (норма 20-100 мкВ) ($p>0,05$). Доминирующая частота и асимметрия альфа-ритма между правым и левым полушарием не выходили за границы нормы, и значимых различий по ним не отмечалось ($p>0,05$). Амплитуда бета-ритма у детей с ХВУГ значимо чаще ($p\leq0,05$) регистрировалась на верхней границе нормы, а также значимо выше ($p\leq0,05$), чем у детей без ХВУГ в анамнезе. Значимых различий при регистрации дельта-ритма и показателей его средней амплитуды между основной группой наблюдения и группой сравнения не установлено ($p>0,05$). Среднее значение амплитуды тета-ритма оказалось значимо больше ($p\leq0,05$) в основной группе, чем в группе сравнения.

**Заключение.** По данным проведенного исследования у детей с ХВУГ бета-активность выше, чем у детей без ХВУГ, и находится на верхних границах нормы, что характеризует активность сети ГАМК-эргических тормозящих нейронов неокортекса, и выражается в более высоком уровне внешнего возбуждающего импульса и относительно сильном внутрикорковом торможении. Тета-активность у детей с ХВУГ во время записи фоновой ЭЭГ свидетельствует о более сильном эмоциональном возбуждении.

*Ключевые слова:* школьники начального этапа образования, хроническая внутриутробная гипоксия, показатели электроэнцефалограммы

# ELECTROENCEPHALOGRAPHY INDICATORS OF CHILDREN WHO HAVE SUFFERED CHRONIC INTRAUTERINE HYPOXIA AND ARE BROUGHT UP IN SOCIAL INSTITUTIONS

Udovenko A.A., Shestakova V.N., Evseev A.V., Sosin D.V., GlushchenkoV.A., Morozova A.A., Indyukova E.D., Lyamec L.L.

*Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To identify the features of the main indicators when registering background EEG in primary school-age children living in social institutions and minors who have suffered chronic intrauterine hypoxia in the antenatal period.

**Methods.** The study involved students of the initial stage of general education (n=75). Of these, 45 children made up the main observation group who experienced chronic hypoxia in the antenatal period. The comparison group included children who did not have chronic intrauterine fetal hypoxia (HVUG). The background EEG was recorded using the Mizar-EEG-202 electroencephalograph. For the analysis of the background EEG data, sections without the presence of artifacts were used, which were divided into epochs of 2.56 seconds, with a total duration of at least 30 seconds. The values of the relative EEG power were determined for the examined groups. Mathematical processing of materials was carried out using application programs on a personal computer.

**Results.** As a result of the examination, the main indicators of alpha, beta, delta and theta rhythms of the background EEG in the main observation group and the comparison group were determined. It was found that the indicators of the maximum and average amplitude of the alpha rhythm in the left and right leads in both observation groups were within normal values (norm 20-100 MV) ($p>0.05$). The dominant frequency and asymmetry of the alpha rhythm between the right and left hemispheres did not exceed the limits of the norm, and there were no significant differences in them ($p>0.05$). The amplitude of the beta rhythm in children with HVUG was significantly more often ($p\leq0.05$) recorded at the upper limit of the norm, and also significantly higher ($p\leq0.05$) than in children without HVUG in the anamnesis. There were no significant differences in the registration of the delta rhythm and its average amplitude indicators between the main observation group and the comparison group ($p>0.05$). The average value of the theta rhythm amplitude was significantly higher ($p\leq0.05$) in the main group than in the comparison group.

**Conclusions.** According to the data of the study, beta activity in children with HVUG is higher than in children without HVUG, and is at the upper limits of the norm, which characterizes the activity of the network of gabaergic inhibitory neurons of the neocortex, and is expressed in a higher level of external excitatory impulse and relatively strong intracortical inhibition. Theta activity in children with HVUG during background EEG recording indicates a stronger emotional arousal.

*Keywords:* schoolchildren of the initial stage of education, chronic intrauterine hypoxia, electroencephalogram indicators

## Введение

Проблема здоровья обучающихся остается актуальной, так как наибольший рост частоты патологии и развитие хронических заболеваний происходит на этапе раннего возраста, прогрессируя по мере взросления, реализуясь в хронический процесс или коморбидный дефект. Особую тревогу вызывают дети, попавшие в трудную жизненную ситуацию и оказавшиеся воспитанниками учреждений социальной сферы для несовершеннолетних. Они чаще имеют нарушения психоэмоциональной сферы, слухоречевых функций, соматического, физического, психологического и репродуктивного компонентов здоровья [11-12]. Отклонения в развитии таких детей приводят к выпадению их из социального и культурного обусловленного образовательного пространства, снижая способность адаптироваться к новым условиям жизни, к образовательному процессу. У них с рождения отмечаются низкие функциональные показатели, часто выявляется хроническая внутриутробная гипоксия, что выражается в некоторых особенностях при проведении ряда обследований, в частности ЭЭГ [13]. В литературных источниках нет четкого описания ЭЭГ картины у воспитанников учреждениях социальной сферы в возрасте 7-11 лет, перенесших хроническую гипоксию плода, что во многом препятствует проведению профилактических и реабилитационных мероприятий.

Цель исследования – выявить особенности основных показателей при регистрации фоновой ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, проживающих в учреждениях социальной сферы ля несовершеннолетних, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию в антенатальном периоде.

## Методика

В исследовании приняли участие обучающие начального этапа общего образования (n=75). Из них 45 детей составили основную группу наблюдения, которые в антенатальном периоде испытывали хроническую внутриутробную гипоксию. В группу сравнения вошли дети, которые не испытывали в антенатальном периоде хроническую внутриутробную гипоксию.

Регистрацию фоновой ЭЭГ проводили при помощи электроэнцефалографа «Мицар-ЭЭГ-202». Дети во время записи находились в состоянии двигательного покоя и при открытых глазах. Частота среза фильтра высоких частот составила 1,5 Гц, низких – 35 Гц, частота оцифровки ЭЭГ – сигналов составила 250 Гц. Обработка сигналов проводилась при помощи быстрого преобразования Фурье. Для анализа данных фоновой ЭЭГ использовались участки без наличия артефактов, которые разбивались на эпохи по 2,56 секунд, при общей длительности не менее 30 секунд. Для обследуемых групп по данным Кайда А.И. и соавт. (2019) были определены значения относительной мощности (ОМ) ЭЭГ в частотных диапазонах: альфа-ритм – 8-13 Гц, бета-ритм - 14-35 Гц, дельта-ритм – 0,3-4 Гц , тета-ритм – 4-7 Гц.

При проведении статистического анализа для автоматизации статистических вычислений использовался табличный процессор Microsoft Excel 2016. Для количественных оценок центральных тенденций статистических распределений анализируемых выборок использовались средние значения. Проверка нормальности выборок осуществлялась при помощи критерия согласия хи-квадрат (Пирсона) и критерий Колмогорова-Смирнова [7, 14]. Для сравнения выборочных средних использовался t-критерий Стьюдента [14]. Проверка статистических гипотез проводилась на уровне значимости 0,05.

## Результаты исследования

В результате обследования были определены основные показатели альфа, бета, дельта и тета-ритмов фоновой ЭЭГ в основной и группе сравнения. В группе детей, переживших хроническую внутриутробную гипоксию, значение максимальной амплитуды альфа-ритма в левых отведениях составила 58,3±9,34 мкВ, в правых 64,04±10,61 мкВ (табл. 1), при этом показатели средней амплитуды альфа-ритма в отведениях слева и справа составило 30,52±6,43 мкВ и 32,3±6,68 мкВ соответственно (табл. 2).

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей амплитуд по результатам ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, воспитывающихся в учреждениях социальной сферы для несовершеннолетних, перенесших хроническую гипоксию плода

| Характе-ристика групп | Группы наблюдения | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Все дети (n=75) | | | | | | |
| | Показатели амплитуды | | | | | | |
| | Альфа-ритм | | Бета-ритм | Дельта-ритм | | Тета-ритм | |
| | Слева | Справа | | Слева | Справа | Слева | Справа |
| Основная группа (n=45) | | | | | | | |
| Дети с ХВУГ | 58,3±9,34 мкВ | 64,04±10,61 мкВ | 29,17±3,58 мкВ | 95,77±12,62 мкВ | 101,36±14,72 мкВ | 68,27±5,28 мкВ | 71,65±7,14 мкВ |
| Группа сравнения (n=30) | | | | | | | |
| Дети без ХВУГ | 52,36±8,12 мкВ | 59,07±8,37 мкВ | 22,86±2,11 мкВ | 92,37±18,26 мкВ | 89,2±16,84 мкВ | 59,0±3,52 мкВ | 58,17±4,08 мкВ |

Доминирующая частота регистрировалась в рамках 9,81±0,32 Гц, а межполушарная асимметрия составляла 17,17±3,08%. Доминирование альфа-ритма слева определялось в отведениях: передне-лобном в 13±10,1%, центральном и теменно-затылочном в 4,4±6,1%, задне-височном и теменном в 8,9±8,5%, затылочном 62,2±14,5%. В отведениях справа: передне-лобном в 13±10,1%, лобном, центральном, средне-височном, теменном, теменно-затылочном в 4,4±6,1%, затылочном в 66±14,1%. Среднее значение амплитуды бета-ритма укладывалось в рамках 29,17±3,58 мкВ. Доминирование бета-ритма было выявлено в отведениях слева: лобном в 57,8±14,7%, височном в 4,4±6,1%, теменном и теменно-затылочном в 8,9±8,5%, затылочном в 22±12,4%., в отведениях справа: в передне-лобном, передне-височном, височном в 4,4±6,1%, теменном и теменно-затылочном в 8,9±8,5%, лобном в 53,3±14,9%, затылочном в 17,8±11,4%. Дельта активность была отмечена у 93,3±7,4% детей, при средних показателях амплитуды в отведениях слева 95,77±12,62 мкВ и справа 101,36±14,72 мкВ (табл. 1 и 2).

Наибольшая амплитуда дельта-ритма наблюдалась в отведениях слева: передне-лобное в 53,3±14,9%, лобном и передне-височном в 8,9±8,5%, теменно-затылочном в 4,4±6,1%, затылочном в 22±12,4%; в правых отведениях: передне-лобном в 20±11,9%, лобном и передне-височном в 13±10,1%, задне-височном и теменно-затылочном в 4,4±6,1%, затылочном в 22±12,4%. Тета-ритм

был зарегистрирован в левых отведениях у 62,2±14,5%, правых у 66,7±14,1%, при средних значениях амплитуды 68,27±5,28 мкВ слева и 71,65±7,14 мкВ справа. Тета-ритм преобладал по амплитуде в левых отведениях: передне-лобном в 17,8±11,4%, лобном и теменно-затылочном в 4,4±6,1%, передне-височном, центральном, теменном в 8,9±8,5%, затылочном в 13±10,1%; в отведениях справа: передне-лобном в 17,8±11,4%, лобном и теменном 4,4±6,1%, передне-височном и центральном в 8,9±8,5%, теменно-затылочном в 22±12,4%, затылочном в 31,1±13,8%.

Таблица 2. Сравнительная характеристика альфа-ритма по результатам ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, воспитывающихся в учреждениях социальной сферы для несовершеннолетних, перенесших хроническую гипоксию плода

| Характеристика групп | Группы наблюдения | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Все дети (n=75) | | | |
| | Характеристика альфа-ритма | | | |
| | Средняя амплитуда | | Доминирующая частота | Межполушарная асимметрия |
| | Слева | Справа | | |
| Основная группа (n=45) | | | | |
| Дети с ХВУГ | 30,52±6,43 мкВ | 32,3±6,68 мкВ | 9,81±0,32 мкВ | 17,17±3,08 мкВ |
| Группа сравнения (n=30) | | | | |
| Дети без ХВУГ | 24,14±4,39 мкВ | 27,29±4,7 мкВ | 9,66±0,33 мкВ | 16,36±3,27 мкВ |

В группе детей, у которых в анамнезе не было хронической внутриутробной гипоксии, значение максимальной амплитуды альфа-ритма по отведениям слева и справа находилось в интервалах 52,36±8,12 мкВ и 59,07±8,37 мкВ соответственно, при средней амплитуде альфа-ритма слева 24,14±4,39 мкВ, справа 27,29±4,7 мкВ (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительная характеристика доминирующих отведений альфа- и бета-ритмов по результатам ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, воспитывающихся в учреждениях социальной сферы для несовершеннолетних, перенесших хроническую гипоксию плода

| Характе-ристика групп | Группы наблюдения | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Все дети (n=75) | | | | | |
| | Доминирующие отведения | | | | | |
| | Альфа-ритм | | | Бета-ритм | | |
| | Отведение | Слева | Справа | Отведение | Слева | Справа |
| Основная группа (n=45) | | | | | | |
| Дети с ХВУГ | Передне-лобное | 13±10,1% | 13±10,1% | Передне-лобное | - | 4,4±6,1% |
| | Лобное | | 4,4±6,1% | Лобное | 57,8±14,7% | 53,3±14,9% |
| | Центральное | 4,4±6,1% | 4,4±6,1% | Передне-височное | - | 4,4±6,1% |
| | Средне-височное | - | 4,4±6,1% | Височное | 4,4±6,1% | 4,4±6,1% |
| | Задне-височное | 8,9±8,5% | - | Теменное | 8,9±8,5% | 8,9±8,5% |
| | Теменное | 8,9±8,5% | 4,4±6,1% | Теменно-затылочное | 8,9±8,5% | 8,9±8,5% |
| | Теменно-затылочное | 4,4±6,1% | 4,4±6,1% | Затылочное | 22±12,4% | 17,8±11,4% |
| | Затылочное | 62,2±14,5% | 66±14,1% | | | |
| Группа сравнения (n=30) | | | | | | |
| Дети без ХВУГ | Центральное | 6,7±9,1% | 13,3±12,4% | Передне-лобное | - | 6,7±9,1% |
| | Задне-височное | - | 6,7±9,1% | Лобное | 60,0±17,9% | 60,0±17,9% |
| | Теменное | 6,7±9,1% | 6,7±9,1% | Передне-височное | 13,3±12.,4% | 20,0±14,0% |
| | Затылочное | 80±14,6% | 66,6±17,2% | Центральное | 13,3±12,4% | - |
| | | | | Затылочное | 6,7±9,1% | 6,7±9,1% |

Показатель доминирующей частоты был в пределах 9,66±0,33 Гц, а межполушарной асимметрии 16,36±3,27%. Альфа-ритм доминировал в отведениях слева: затылочном в 80±14,6%, центральном и теменном в 6,7±9,1%; в правых отведениях: затылочном в 66,6±17,2%, центральном 13,3±12,4%, теменном и задне-височном в 6,7±9,1%.

Средняя амплитуда бета-ритма составила 22,86±2,11 мкВ. Доминирование бета-ритма выявлялось в левых отведениях: лобном в 60,0±17,9%, затылочном в 6,7±9,1%, передне-височном и

центральном в 13,3±12.4%; в отведениях справа: лобном в 60,0±17,9%, передне-лобном и затылочном в 6,7±9,1%, передне-височном в 20,0±14% (табл. 4).

Таблица 4. Сравнительная характеристика доминирующих отведений дельта- и тета-ритмов по результатам ЭЭГ у детей младшего школьного возраста, воспитывающихся в учреждениях социальной сферы для несовершеннолетних, перенесших хроническую гипоксию плода

| Характе-ристика групп | Группы наблюдения | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Все дети (n=75) | | | | | |
| | Доминирующие отведения | | | | | |
| | Дельта-ритм | | | Тета-ритм | | |
| | Отведение | Слева | Справа | Отведение | Слева | Справа |
| Основная группа (n=45) | | | | | | |
| Дети с ХВУГ | Передне-лобное | 53,3±14,9% | 20±11,9% | Передне-лобное | 17,8±11,4% | 17,8±11,4% |
| | Лобное | 8,9±8,5% | 13±10,1% | Лобное | 4,4±6,1% | 4,4±6,1% |
| | Передне-височное | 8,9±8,5% | 13±10,1% | Передне-височное | 8,9±8,5% | 8,9±8,5% |
| | Задне-височное | - | 4,4±6,1% | Центральное | 8,9±8,5% | 8,9±8,5% |
| | | | | Теменное | 8,9±8,5% | 4,4±6,1% |
| | | | | Теменно-затылочное | 4,4±6,1% | 22±12,4% |
| | Теменно-затылочное | 4,4±6,1% | 4,4±6,1% | Затылочное | 13±10,1% | 31,1±13,8% |
| | Затылочное | 22±12,4% | 22±12,4% | | | |
| | Всего выявлено | 93,3±7,4% | | Всего выявлено | 62,2±14,5% | 66,7±14,1% |
| Группа сравнения (n=30) | | | | | | |
| Дети без ХВУГ | Передне-лобное | 46,7±18,2% | 20±14,6% | Лобное | - | 6,7±9,1% |
| | Передне-височное | 6,7±9,1% | 13,3±12,4% | Теменное | 33,3±17,2% | 26,7±16,1% |
| | Задне-височное | - | 6,7±9,1% | Затылочное | 13,3±12.4% | 6,7±9,1% |
| | Центральное | 6,7±9,1% | - | Всего выявлено | 50±18,3% | 46,7±18,2% |
| | Теменное | - | 6,7±9,1% | | | |
| | Затылочное | 13,3±12,4% | 6,7±9,1% | | | |
| | Всего выявлено | 80±14,6% | 73,3±16,1% | | | |

Дельта-ритм был зафиксирован у 80,0±14,6% слева и 73,3±16,1% справа, средняя амплитуда слева 92,37±18,26 мкВ, справа 89,2±16,84 мкВ. Преобладание дельта-ритма по амплитуде отмечалось в левых отведениях: передне-лобном в 46,7±18,2%, затылочном в 13,3±12,4%, передне-височном и центральном в 6,7±9,1%; в правых отведениях: передне-лобное в 20,0±14,6%, передне-височное в 13,3±12,4%, задневисочное, теменное и затылочное в 6,7±9,1%. Тета-ритм наблюдался у 50,0±18,3% в отведении слева и 46,7±18,2% справа, при средних значениях амплитуды 59,0±3,52 мкВ слева и 58,17±4,08 мкВ справа (табл. 4).

Наибольшее значение амплитуды тета-ритма было зарегистрировано в отведениях слева: затылочное в 13,3±12.4%, теменное в 33,3±17,2%; в правых отведениях: лобное и затылочное в 6,7±9,1%, теменное в 26,7±16,1%. Усиление медленно-волновой активности в основной группе регистрировалось у 53,3±14,9%, в группе сравнения у 60,0±17,9% детей, достоверных различий не установлено. Билатерально-синхронные вспышки с частотой до 6-7 Гц в основной группе были зарегистрированы у 26±13,2%, что достоверно чаще, чем в группе сравнения (13,0±12,4%, $p<0,05$).

Таким образом, показатели максимальной и средней амплитуды альфа-ритма в левых и правых отведениях находились в пределах нормальных значений (норма 20-100 мкВ) в обеих группах, и достоверных различий по данным показателям между основной и группой сравнения не выявлено ($p>0,05$). Доминирующая частота и асимметрия альфа-ритма между правым и левым полушарием не выходили за границы нормы, и достоверных различий по ним не установлено ($p>0,05$). Средняя амплитуда бета-ритма в обеих группах наблюдения соответствовало возрастным показателям (10-30 мкВ). Однако амплитуда бета-ритма у детей с ХВУГ находится достоверно чаще ($p\leq0,05$) на верхней границе нормы и достоверно выше ($p\leq0,05$), чем у детей без ХВУГ. Достоверных различий при регистрации дельта-ритма и показателей его средней амплитуды и тэта-активности между основной и группой сравнения не выявлялось ($p>0,05$), при этом среднее значение амплитуды тета-ритма в основной группе оставалось выше ($p\leq0,05$), чем в группе сравнения. Доминирование альфа-ритма достоверно чаще ($p\leq0,05$) отмечалось в затылочных отведениях слева и справа в обеих группах наблюдения. Бета-ритм достоверно чаще ($p\leq0,05$) доминировал в лобных отведениях слева и справа также в обеих группах исследования. В группе детей с ХВУГ

достоверно чаще ($p \leq 0,05$) наибольшая амплитуда дельта-ритма регистрировалась слева в переднелобных отведениях, справа же достоверных различий по отведениям не встречалось ($p > 0,05$). Достоверных различий как в основной, так и в группе сравнения показателя наибольшей амплитуды тета-ритма и усиления медленно-волновой активности по отведениям слева и справа не установлено ($p > 0,05$).

## Обсуждение результатов исследования

Метод использования электроэнцефалографии получил широкое распространение для выявления особенностей функционального состояния головного мозга у детей разных возрастных периодов и в зависимости от наличия патологии со стороны центральной нервной системы. В своем исследовании Волкова Н.И., Уразаев К.Ф. отмечают большую роль электрофизиологических обследований детей с задержкой психического развития при выявлении существенных отличий как от нормы, так и от лёгких форм умственной отсталости [1, 2]. Ими установлены некоторые особенности функционального состояния головного мозга, при этом ЭЭГ позволило выявить наличие органических повреждений различных структур мозга, возникших в период пренатального и постнатального развития, которые обуславливают нарушения внимания, поведения, эмоционально-волевой сферы и речевой деятельности [4]. Это находит отражение и в нашем исследования, где при проведении ЭЭГ были выявлены особенности амплитуды бета- и тета-ритмов у детей 7-11 лет, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, являющихся воспитанниками учреждения социальной сферы, среди которых указанные Волковой Н.И. и Уразаевым К.Ф. нарушения не являются редкостью [1]. В работах Королевой Н.В., Колесниковым С.И., Долгих В.В. отражено на сколько перинатальная патология может влиять на функциональное состояние головного мозга [6]. Они установили, что в 79,8% случаев имелись различные осложнения течения перинатального периода, а это позволяет выделить влияние хронической внутриутробной гипоксии, занимающей лидирующее место среди перинатальной патологии, на функциональное состояние головного мозга у детей [9, 10].

Так по данным исследования у 33,3% детей в возрасте 7 лет и у 7,4% в возрасте 11 лет ЭЭГ картина была отнесена к третьему типу, который характеризовался выраженной задержкой электрогенеза и преобладанием медленных ритмов по сравнению с ЭЭГ, соответствующей возрастной норме, что можно соотнести с результатами нашего исследования, где у детей, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, среднее значение амплитуды тета-ритма было достоверно выше, чем у детей без хронической внутриутробной гипоксии в анамнезе. Кроме этого, в исследовании Косенковой Т.В., Федоровой Е.А., Гомбалевской М.С., Овчинниковым Б.В. у детей в возрасте 6-7 лет с последствиями перинатального гипоксического поражения центральной нервной системы на ЭЭГ в качестве коррелятов незрелости мозговых структур также одним из признаков выступало повышение медленно-волновой активности [3, 5]. Отклонения характеристик альфа-ритма, выявленных при проведении упомянутых исследований, у нас обнаружено не было. Возможно, это связано с тем, что обследуемый нами контингент детей является строго воспитанниками учреждения социальной сферы, у которых в силу наличия неблагоприятного социального анамнеза, даже не смотря на выделенную нами хроническую внутриутробную гипоксию, будут иметься свои особенности функционального состояния головного мозга.

## Заключение

По данным проведенного исследования у детей с ХВУГ бета-активность выше, чем у детей без ХВУГ, и находится на верхних границах нормы, что характеризует активность сети ГАМК-эргических тормозящих нейронов неокортекса, и выражается в более высоком уровне внешнего возбуждающего импульса и относительно сильном внутрикорковом торможении. Тета-активность у детей с ХВУГ во время записи фоновой ЭЭГ свидетельствует о более сильном эмоциональном возбуждении. Для обеспечения требуемых условий, в частности двигательного покоя, таким детям необходимо сдерживать свой эмоциональный фон, вследствие чего они в подобные моменты более сконцентрированы и напряжены. Похожая картина может наблюдаться и в школьных условиях, когда детям, особенно в младшем школьном возрасте, во время учебного процесса, который провоцирует различные эмоциональные всплески, приходится сидеть за партой, придерживаясь определенных правил и дисциплины. Все это выливается в большей склонности к стрессу, повышению тревожности, переживаниям, нарушению сна, что необходимо учитывать при

проведении профилактических и реабилитационных мероприятий у воспитанников учреждений социальной сферы для несовершеннолетних, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию.

## Литература (references)


1. Волкова Н.И., Уразаев К.Ф. Электроэнцефалографическое исследование детей с задержкой психического развития // Успехи современного естествознания. – 2005. – №5. – С. 26-27. [Volkova N.I., Urazaev K.F. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya.* Successes of modern natural science. – 2005. – N5. – P. 26-27 (in Russian)]
2. Гамирова Р.Г., Белоусова М.В., Уткузова М.А., Зайкова Ф.М. Особенности электроэнцефалографических изменений у детей с нарушениями речевого развития // Вестник современной клинической медицины. – 2014. – Т.7, №3. – С. 15-20. [Gamirova R.G., Belousova M.V., Utkuzova M.A., Zaikova F.M. *Vestnik sovremennoj klinicheskoj mediciny.* The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. – 2014. – V.7, N3. – P. 15-20. (in Russian)]
3. Гузева В.И., Гузева В.В., Гузева О.В. Техника записи, возрастные особенности и клиническое значение ЭЭГ в неврологии. СПб: СПбГПМУ, 2018. – 68 с. [Guzeva V.I., Guseva V.V., Guzeeva O.V. *Tekhnika zapisi, vozrastnye osobennosti i klinicheskoe znachenie EEG v nevrologii.* Recording technique, age characteristics and clinical significance of EEG in neurology. – Saint Petersburg: SPbSPMU, 2018. – 68 p. (in Russian)]
4. Здоровья детей подросткового возраста. Пути его укрепления и сохранения. Книга IV, часть I // Под реда. Шестаковой В.Н., Чижовой Ж.Г., Сосина Д.В., Давыдовой Н.В. – Смоленск, 2021. – 488 с. [*Zdorov'ya detej podrostkovogo vozrasta. Puti ego ukrepleniya i sohraneniya. Kniga IV, chast' I.* Health of adolescent children. Ways to strengthen and preserve it. Book IV, part I // Ed. by V.N Shestakova., Zh.G. Chizhova., D.V. Sosin., N.V. Davydova. – Smolensk, 2021. – 488 p. (in Russian)]
5. Королева Н.В., Колесников С.И., Долгих В.В. Динамика электроэнцефалографических показателей у детей с различными типами ЭЭГ // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007, №2(54). – С. 49-51. [Koroleva N.V., Kolesnikov S.I., Dolgikh V.V. *Byulleten' VSNC SO RAMN.* Acta biomedica scientifica. – 2007, N2(54). – P. 49-51. (in Russian)]
6. Косенкова Т.В., Федорова Е.А., Гомбалевская М.С., Овчинников Б.В. Особенности электрофизиологической активности головного мозга у детей дошкольного и юношеского возраста с наличием перинатального гипоксического поражения центральной нервной системы в анамнезе // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т.15, №5. – С. 64-71. [Kosenkova T.V., Fedorova E.A., Gombalevskay M.S., Ovchinnikov B.V. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2016. – V.15, N5. – P. 64-71. (in Russian)]
7. Лямец Л.Л., Евсеев А.В. Методика проверки гипотезы о нормальном распределении малой выборки в фармакологических исследованиях // Вестник Смоленской медицинской академии. – 2019. – Т.18, №1. – С. 55-66. [Ljamec L.L., Evseev A.V. *Vestnik Smolenskoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2019. –V.18, N1. – P. 55-66. (in Russian)]
8. Лямец Л.Л., Евсеев А.В., Козлова Е.К., Колпакова М.А. Способ вычисления мощности t-критерия в фармакологических исследованиях // Вестник Смоленской медицинской академии. – 2019. – Т.18, №4. – С. 28-38. [Ljamec L.L., Evseev A.V., Kozlova E.K., Kolpakova M.A. *Vestnik Smolenskoj medicinskoj akademii.* Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2019. –V.18, N4. – P. 28-38. (in Russian)]
9. Михайлова А.А., Кайда А.И., Эйсмонт Е.В., Павленко В.Б. Возрастные особенности бета-ритмов ЭЭГ у детей 4-15 лет в состоянии устойчивого зрительного внимания // Ученые записки Крымского Федерального университета имени В.И. Вернадского, Биология. Химия. – 2021. – Т.7(73), №2. – С. 95-103. [Mikhailova A.A., Kaida A.I., Eismont E.V., Pavlenko V.B. *Uchenye zapiski Krymskogo Federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo, Biologiya. Himiya.* Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry. – 2021. – V.7(73), N2. – P. 95-103. (in Russian)]
10. Михайлова А.А., Орехова Л.С., Дягилева Ю.О. и др. Реактивность тета-ритма у детей раннего возраста с разным уровнем помогающего поведения // Ученые записки Крымского Федерального университета имени В.И. Вернадского, Биология. Химия. – 2020. – Т.6(72), №3. – С. 117-126. [Mikhailova A.A., Orekhova L.S., Diaghileva Yu.O. i dr. *Uchenye zapiski Krymskogo Federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo, Biologiya. Himiya.* Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry. – 2020. – V.6 (72), N3. – P. 117-126. (in Russian)]
11. Морфофункциональные особенности развития детей подросткового возраста: проблемы, перспективы и пути их решения. Книга III, часть 1 / Под ред. В.Н. Шестаковой, Ю.В. Марченковой, Ж.Г. Чижовой. – Смоленск, 2020. – 514 с. [*Morfofunkcional'nye osobennosti razvitija detej podrostkovogo vozrasta: problemy,*

*perspektivy i puti ih reshenija. Kniga III, chast' 1.* Morphofunctional features of the development of adolescent children: problems, prospects and ways to solve them. Book III, part 1. – Smolensk, 2020. – 514 p. (in Russian)]

12. Морфофункциональные особенности развития детей подросткового возраста: проблемы, перспективы и пути их решения. Книга III, часть 2 / Под ред. В.Н. Шестаковой, Ю.В. Марченковой, Ж.Г. Чижовой. – Смоленск, 2020. – 514 с. [*Morfofunkcional'nye osobennosti razvitija detej podrostkovogo vozrasta: problemy, perspektivy i puti ih reshenija. Kniga III, chast' 1.* Morphofunctional features of the development of adolescent children: problems, prospects and ways to solve them. Book III, part 2. – Smolensk, 2020. – 344 p. (in Russian)]
13. Особенности развития детей на всех этапах онтогенеза и современные подходы к оказанию помощи детям с речевыми нарушениями // Под ред. проф. Шестаковой В.Н, Коновой С.Р., Чижовой Ж.Г. и др. – Смоленск, 2020. – 472 с. [*Osobennosti razvitiya detej na vsekh etapah ontogeneza i sovremennye podhody k okazaniyu pomoshchi detyam s rechevymi narusheniyami*. Features of children's development at all stages of ontogenesis and modern approaches to helping children with speech disorders. – Smolensk, 2020. – 472 p. (in Russian)]
14. Хатит А.М., Лямец А.Л. Алгоритм проверки гипотезы о нормальном распределении исследуемого количественного признака // Смоленский медицинский альманах. – 2022. – №3. – С. 131-136. [Hatit A.M., Ljamec A.L. *Smolenskij medicinskij al'manah.* Smolensk Medical Almanac. – 2022. – N3. – P. 131-136. (in Russian)]

**Информация об авторах**

*Удовенко Александр Андреевич* – аспирант кафедры поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: avp.wolf@yandex.ru

*Шестакова Вера Николаевна* – профессор, доктор медицинских наук, профессор кафедры поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: docmedvn@yandex.ru

*Евсеев Андрей Викторович* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии, заведующий научно-исследовательским центром ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий научно-исследовательским центром. E-mail hypoxia@yandex.ru

*Сосин Денис Владимирович* – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: pediatrsgma@mail.ru

*Глущенко Вероника Андреевна* – аспирант кафедры поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: vebogormistrova@gmail.com

*Морозова Анна Артаковна* – клинический ординатор кафедры госпитальной педиатрии с курсом неонатологии ФДПО ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: annasaakysaakyan15@yandex.ru

*Индюкова Екатерина Дмитриевна* - студентка педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: tana1968dima1969@yandex.ru

*Лямец Леонид Леонидович* – кандидат технических наук, доцент, заведующий кафедрой физики, математики и медицинской информатики ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: LLL190965@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616-053.2* 3.1.21 Педиатрия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.18 EDN: SWBUKY*

# ОСОБЕННОСТИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ У ПОДОСТКОВ НА ФОНЕ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

**© Осовецкая Ю.Л.[1], Кильдиярова Р.Р.[1], Легонькова Т.И.[2], Червякова Я.И.[1], Штыкова О.Н.[2]**

[1]*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2*

[2]*Смоленская государственыйя медицинский университет, Россия, 214018, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Определить взаимосвязи язвенной болезни желудка и/или двенадцатиперстной кишки и фенотипических проявлений дисплазии соединительной ткани (ДСТ) у детей.

**Методика.** В исследовании участвовало 53 ребенка в возрасте от 10 до 17 лет с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки Морозовской детской городской клинической больницы. Пациенты были разделены в две группы: основная группа – 33 пациента с признаками ДСТ и группа сравнения – 20 пациентов без признаков ДСТ. Диагноз язвенной болезни был верифицирован клинико-эндоскопически, ДСТ выставлялась на основании наличия основных и второстепенных признаков, рекомендованных Федеральными клиническими рекомендациями по дисплазии соединительной ткани. Для сравнения двух групп был использован метод корреляционного анализа, в качестве пограничного уровня статистической значимости принимали значения ошибки $p<0,05$.

**Результаты.** У всех наблюдаемых детей диагноз язвенной болезни верифицирован клинико-эндоскопически, сопутствующими заболеваниями являлись дискинезия желчного пузыря в 41,5%, функциональные запоры – 32,1%, железодефицитные анемии – 26,4% случаев. В основной группе язвенный дефект наблюдался чаще в желудке – в 75,8%, реже – в двенадцатиперстной кишке – 24,2%. В группе же сравнения все дети (20 человек) имели язвенную болезнь двенадцатиперстной кишки. Заметим, при формировании язвенного дефекта в двенадцатиперстной кишке при наличии ДСТ в 12,1 % отмечалось возникновение «зеркальных» язв, при отсутствии таковых в группе сравнения. У детей основной группы заболевание манифестировало в более ранние строки – с 11 лет, в группе сравнения – 12,5 лет. В обеих группах обнаружена прямая сильная связь возраста с выраженностью болевого ($r=0,74$, $p=0,001$) и астенического синдромов ($r=0,82$, $p=0,001$). Но в основной группе отмечены средние и сильные корреляционные связи между болевым и астеническим синдромом и признаками дисплазии соединительной ткани (r равен от 0,6 до 0,95, $p<0,01$).

**Заключение.** По нашим наблюдениям наличие ДСТ у подростков с язвенной болезнью увеличивает выраженность болевого, астенического и верхнего диспепсического синдромов, что подтверждается достоверными средними и сильными корреляционными взаимосвязями. Язвенный дефект формируется чаще в желудке в сравнении с пациентами без ДСТ, для которых характерно поражение двенадцатиперстной кишки. Показателем прогноза более тяжелого течения язвенной патологии у подростков следует считать наличие фенотипических признаков ДСТ.

*Ключевые слова:* дисплазия соединительной ткани, подростки, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки

# FEATURES OF PEPTIC ULCER IN ADOLESCENTS AGAINST THE BACKGROUND OF CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

Osovetskaya Yu.L.[1], Kildiyarova R.R.[1], Legonkova T.I.[2], Chervyakova Ya.I.[1], Shtykova O.N.[2]

[1]*First Moscow State Medical University named after. I.M. Sechenov (Sechenov University), 8, building 2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia*

[2]*Smolensk State Medical Univercity, 28, Krupskoj St., 214018, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To determine the relationship between gastric and/or duodenal ulcers and phenotypic manifestations of connective tissue dysplasia (CTD) in children.

**Methods.** The study involved 53 children aged 10 to 17 years with peptic ulcer of the stomach and duodenum at the Morozov Children's City Clinical Hospital. The patients were divided into two groups: the main group – 33 patients with signs of CTD and the comparison group - 20 patients without signs of CTD. The diagnosis of peptic ulcer was verified clinically and endoscopically; DST was established based on the presence of primary and secondary signs recommended by the Federal Clinical Guidelines for Connective Tissue Dysplasia. To compare the two groups, the method of correlation analysis was used; error values $p<0.05$ were taken as the borderline level of statistical significance.

**Results.** In all observed children, the diagnosis of peptic ulcer was verified clinically and endoscopically; concomitant diseases were gallbladder dyskinesia in 41.5%, functional constipation – 32.1%, iron deficiency anemia – 26.4% of cases. In the main group, ulcerative defect was observed more often in the stomach - in 75.8%, less often - in the duodenum – 24.2%. In the comparison group, all children (20 people) had duodenal ulcer. It should be noted, that during the formation of an ulcerative defect in the duodenum in the presence of DST, the occurrence of “mirror” ulcers was noted in 12.1%, in the absence of such phenomenon in the comparison group. In children of the main group, the disease manifested itself at an earlier age - from 11 years, in the comparison group - 12.5 years. In both groups, a direct strong relationship was found between age and the severity of pain ($r=0.74$, $p=0.001$) and asthenic syndromes ($r=0.82$, $p=0.001$). But in the main group, medium and strong correlations were noted between pain and asthenic syndrome and signs of connective tissue dysplasia (r is from 0.6 to 0.95, $p<0.01$).

**Conclusion.** According to our observations, the presence of DST in adolescents with peptic ulcer disease increases the severity of pain, asthenic and upper dyspeptic syndromes, which is confirmed by reliable average and strong correlations. An ulcerative defect is formed more often in the stomach compared to patients without DST, which is characterized by damage to the duodenum. The presence of phenotypic signs of DST should be considered an indicator of the prognosis of a more severe course of ulcerative pathology in adolescents.

*Keywords:* connective tissue dysplasia, adolescents, peptic ulcer of the stomach and duodenum.

## Введение

Число больных в Российской Федерации, страдающих от язвенной болезни (ЯБ), составляет около 1,5 миллионов человек [6,9]. Раннее считалось, что заболевание затрагивает только взрослое население, однако клинический опыт гастроэнтерологов доказывает ошибочность данного суждения. Существует доказательная база тяжелого течения ЯБ на фоне других заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также других органов и систем. Закономерность влияния ДСТ, которая распространена у детей шире, чем ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки, на особенности и характер язвообразования все еще остается малоизученной [5, 7 ]. Вопрос ранней диагностики и выявление предрасполагающих факторов к развитию ЯБ у детей является как никогда актуальным.

Известно, что ЯБ редко протекает с типичной клинической картиной, которую заподозрить и своевременно диагностировать довольно трудно [6]. XXI век – век профилактики заболеваний, поэтому так важно выявить взаимосвязь между наглядной и легко диагностируемой ДСТ и нередко протекающей с атипичным безболевым течением ЯБ, чтобы вовремя предотвратить ее последующие возможные осложнения.

Целью исследования явилось определение взаимосвязей язвенной болезни желудка и/или двенадцатиперстной кишки и фенотипических проявлений дисплазии соединительной ткани у подростков.

## Методика

Исследовано 53 ребенка в возрасте от 10 до 17 лет с диагнозом ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки в гастроэнтерологическом отделении Морозовской детской городской клинической больницы. Диагноз ЯБ был верифицирован клинико-эндоскопически, проведен анализ наличия или отсутствия сопутствующей патологии, а также эффективности лечения пациентов. Среди

обследованных 20 детей не имели клинических проявлений ДСТ или имели единичные признаки, не более 2-х внутренних и/или внешних фенов ДСТ (группа сравнения), у остальных 33 (основная группа) обнаружено от 3-х и более внутренних и/или внешних фенов ДСТ. Диагностику ДСТ проводили по основным и второстепенным признакам, рекомендованных Российским научным медицинским обществом терапевтов по ДСТ от 2017 г. [9, 5]. К диспластическим проявлениям отнесены такие критерии, как гипермобильность суставов, тонкая, дряблая кожа, искривление позвоночника, миопия, ложные хорды и пролапс митрального клапана.

В ходе сбора анамнеза жизни и заболевания были анализированы: наследственная отягощенность, характер вскармливания в раннем возрасте, наличие рецидивов заболевания. Лабораторное исследование включало анализ крови (уровень гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов и других показателей), биохимические показатели (С-реактивный белок, печеночные пробы и др.) а также определение различными методами диагностику *Helicobacter pylori* (H.pylori) инфекции. Проведен анализ инструментальных методов – ультразвукового исследования и эзофаго-гастродуоденоскопии с одновременной pH-метрией. Лекарственная терапия включала ингибиторы протонной помпы, антацидные средства, препараты эрадикации H.pylori-инфекции и т.д.

Для сравнения группы детей с ЯБ с наличием и отсутствием ДСТ была использована методика корреляционного анализа. При $p<0,05$ полученные результаты считали статистически значимыми.

## Результаты исследования

У всех наблюдаемых детей диагноз ЯБ подтвержден эндоскопически; сопутствующая патология у пациентов представлена такими заболеваниями, как дискинезия желчного пузыря (41,5%), функциональные запоры (32,1%), дефицитная анемия (26,4%) различной степени тяжести. При этом в основной группе диагноз ЯБ желудка встречался в 75,8% (25 человек), а ЯБ двенадцатиперстной кишки – 24,2% (8 человек), в группе же сравнения все (20 человек) имели ЯБ двенадцатиперстной кишки. Язвенная болезнь манифестировала в более ранние строки у пациентов основной группы – в среднем с 11,2 лет, при показателях манифестации в группе сравнения – с 12,5 лет. У детей основной группы в 12,1% отмечалось возникновение «зеркальных» язв, при отсутствии таковых в группе контроля.

У всех обследованных пациентов основной группы выявлены признаки ДСТ в количестве 3-х и более на пациента. Наиболее частыми признаками ДСТ являлись: ложные хорды - 42,4%, искривление позвоночника – 39,4%, миопия – 33,5% и пролапс митрального клапана – 33,5%, гипермобильность суставов – 30,3% и тонкая, дряблая кожа – 21,2%. У 46 пациентов в обеих группах отмечалось гиперацидное состояние по результатам pH-метрии без статистической значимости в сравнении групп ($p>0,05$).

Выполненный корреляционный анализ показал, что в обеих группах детей с ЯБ обнаружена прямая сильная связь возраста с выраженностью болевого ($r=0,74$, $p<0,001$) и астенического синдромов ($r=0,82$, $p<0,001$). Отмечены средние и сильные корреляционные связи между болевым и астеническим синдромом и признаками ДСТ (r=от 0,6 до 0,95, $p<0,01$).

В обеих группах большинство детей имели отягощенный наследственный анамнез по патологии пищеварительной системы (86,8%), у многих близкие родственников диагностирована ЯБ (62,3%).

В основной группе выявлена прямая средняя связь наследственного фактора и уровня гемоглобина ($r=0,61$, $p<0,01$), эритроцитов ($r=0,57$, $p<0,01$). В группе сравнения сильная связь ($r=0,96$, $p<0,001$) отягощенной наследственности по гастропатологии с содержанием гемоглобином, а также выраженные корреляции с уровнем лейкоцитов ($r=0,73$, $p<0,001$).

Между уровнем гемоглобина и лейкоцитов имеется обратная сильная связь с выраженностью верхнего диспепсического синдрома: в основной группе ($r= -0,74$, $p<0,001$) и в группе сравнения ($r= -0,82$, $p<0,001$). Чем более выражен верхний диспепсический синдром, тем ниже уровень гемоглобина и лейкоцитов у ребенка. В обеих группах – основной и группе сравнения – определена сильная обратная связь между болевым синдромом и сопутствующим функциональным запором: чем интенсивнее боль у ребенка, тем реже наблюдаются запоры ($r= -0,92$ и $r= -0,86$, $p<0,001$ соответственно).

В группе сравнения характер вскармливания детей на первом году жизни достоверно повлиял на степень выраженности болевого синдрома ($r=0,84$), уровень гемоглобина ($r=0,91$) и лейкоцитов ($r=0,87$). В основной группе выявлена прямая средняя связь между типом вскармливания и астеническим синдромом ($r=0,64$, $p<0,01$). Дискинезия желчевыводящих путей чаще встречалась у

детей при искусственном и смешанном вскармливании: в основной группе (54,5%) и группе сравнения (60%, p<0,05).

В основной группе определена прямая сильная корреляционная связь (r=0,86, p<0,001) выставленного диагноза и верхнего диспепсического синдрома, который при ЯБ желудка был значительным. Диагноз ЯБ двенадцатиперстной кишки чаще сопровождался более тяжелой ультразвуковой картиной патологии желчного пузыря и симптоматикой функционального запора (r=0,75, p<0,001).

В основной группе и группе сравнения обнаружена обратная сильная связь между уровнем лейкоцитов (r= -0,89, p<0,001) и обнаружением H.pylori-инфекции (r= -0,92, p<0,001). Чем выше уровень лейкоцитов, тем реже H.pylori обнаружен у пациента. Кроме того установлена обратная сильная связь от уровня гемоглобина (r= -0,73, p<0,001) и наличия H.pylori-инфекции (r= -0,84, p<0,001). Чем ниже числовое значение гемоглобина, тем чаще H.pylori-инфекция обнаруживается у исследуемого ребенка. Основные средние и сильные корреляционные взаимосвязи в обеих группах наблюдения пациентов с язвенной болезнью отражены на рисунке.

Рис. 1. Сравнение корреляционных взаимосвязей показателей анамнеза, дополнительных методов в основной группе (а) и группе сравнения (б) пациентов с язвенной болезнью

## Обсуждение результатов исследования

В качестве исследования влияния ДСТ были отобраны пациенты с патологией пищеварительного тракта, так как соединительная ткань является одной из ключевых в строении данной системы [1, 8, 13]. В детском возрасте одной из самых частых патологий является хронический гастродуоденит, который сочетается с различными патологиями верхних и нижних отделов пищеварительного тракта [1, 14]. Примечательно, что развитие эрозивно-язвенных процессов считаются опасным осложнением, и ряд авторов связывает их возникновение с наличием ДСТ[6, 8]. По литературным данным, наиболее частыми признаками ДСТ являются ложные хорды, искривление позвоночника, миопия и пролапс митрального клапана, гипермобильность суставов и тонкая, дряблая кожа [9, 3, 5, 10, 11]. Также к внешним признакам ДСТ можно отнести высокое небо, мягкие ушные раковины, гиперпигментацию кожи и др., а к внутренним – нефроптоз, варикоцеле, нарушение архитектоники сосудов и др. [2,4].

Симптоматика анемии, в основном железодефицитного генеза у пациентов с патологией пищеварительного тракта зачастую сопровождается астеническим и болевым синдромом [12]. Что подтверждается и результатами нашего исследования.

Известно, что у детей в структуре эрозивно-язвенных процессов пищеварительного тракта чаще развивается язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, а не желудка [6, 8, 14]. Мы предполагаем, что полученные результаты в рамках нашего исследования (бОльшая частота язвенной болезни желудка у детей основной группы) возможно могут быть связаны чаще с влиянием несостоятельности соединительной ткани в стенке желудке при ДСТ.

Некоторыми авторами, как и в нашем исследовании, отмечается взаимосвязь возраста пациента с выраженностью болевого и астенического синдромов [10, 14]. Кроме того согласно литературным данным отмечается, что вскармливание детей на первом году жизни может повлиять на развитие астенизации и анемии у детей в будущем [8, 12]. Возможно, имеется связь с незрелостью функционирования системы пищеварения вследствие отсутствия естественного вскармливания в грудном возрасте пациента [8]. Картина анемии у детей с язвенной болезнью по литературным данным, нередко сопровождается верхним диспепсическим синдромом [8, 12]. В клинической картине при поражении пищеварительного тракта на фоне анемии часто отмечаются такие симптомы как снижение аппетита, диарея, развитие синдрома мальабсорбции [10].

## Заключение

Дисплазия соединительной ткани с наличием таких признаков как ложные хорды – 42,4%, искривление позвоночника – 39,4%, миопия – 33,5% и пролапс митрального клапана – 33,5%, гипермобильность суставов – 30,3% и тонкая, дряблая кожа – 21,2%, создает предпосылки к функциональным и структурным соединительно-тканным нарушениям в целом и усугубляет формирование и течение ЯБ желудка и двенадцатиперстной кишки. Общеизвестно, что акселерация в подростковом возрасте может привести к росту язвообразования, частоты развития сопутствующей патологии. По нашим наблюдениям наличие ДСТ у подростков с язвенной болезнью увеличивает выраженность болевого, астенического и верхнего диспепсического синдромов, что подтверждается достоверными средними и сильными корреляционными взаимосвязями. Язвенный дефект формируется чаще в желудке в сравнении с пациентами без ДСТ, для которых характерно поражение двенадцатиперстной кишки.

Безусловно, на формирование диспластико-ассоциированной ЯБ и ЯБ, протекающей без ДСТ оказывают влияние генетические и медико-биологические факторы: наследственная отягощенность, характер вскармливания на первом году жизни, отягощенный анамнез развития заболевания и жизни. Показателями прогноза более тяжелого течения язвенной патологии у детей следует считать наличие фенотипических признаков ДСТ.

## Литература (references)


1. Арсентьев В.Г., Баранов В.С., Шабалов Н.П. Наследственные нарушения соединительной ткани как конституциональная основа полиорганной патологии у детей. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: СпецЛит. – 2019. – 239 с. [ Arsent'ev V.G., Baranov V.S., Shabalov N.P. Nasledstvennye narushenija soedinitel'noj tkani kak konstitucional'naja osnova poliorgannoj patologii u detej. – 2-e izd., ispr. i dop. – Sankt-Peterburg: SpecLit - 2019. – 239 p. (in Russian)]
2. Иванова И.И. Роль дисплазии соединительной ткани в формировании и течении патологии пищеварительной и мочевыделительной системы у детей и подростков. Автореф. дис…. доктор мед. наук. Тверь. Санкт-Петербург. – 2022. [Ivanova I.I. Rol' displazii soedinitel'noj tkani v formirovanii i techenii patologii pishchevaritel'noj i mochevydelitel'noj sistemy u detej i podrostkov (doctor dis.) Trer'.Sankt-Peterburg. – 2022. (in Russian)]
3. Иванова И.Л., Кильдиярова Р.Р. Клинические проявления дисплазии соединительной ткани у подростков и вертеброгенными заболеваниями нервной системы. Российский педиатрический журнал. – 2012. – № 4. – С. 18-22. [Ivanova I.L., Kil'diyarova R.R. *Rossijskij pediatricheskij zhurnal*. Russian Pediatric Journal. – 2012. – N4. – P. 18-22. (in Russian)]
4. Ивянский С.А., Балыкова Л.А., Щекина Н.В. и др. Нарушение соединительной ткани у и подростков, занимающихся спортом // Педиатрия (Прил.). – 2016. – №4 – С. 94-104. [Ivyanskij S.A., Balykova L.A., SHCHekina N.V. i dr. *Pediatriya (Pril.)*. Pediatrics (Adj.). – 2016. – N4. – P. 94-104. (in Russian)]
5. Кадурина Т.И., Гнусаев С.Ф., Аббакумова Л.Н. и др. Наследственные и многофакторные нарушения соединительной ткани у детей: алгоритмы диагностики, тактика ведения: проект Российских рекомендаций, разработан комитетом экспертов педиатрической группы «Дисплазия соединительной ткани» при Российском научном обществе терапевтов // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. Приложение. – 2014. – Т.93. – №5 – С. 1-40. [Kadurina T.I., Gnusaev S.F., Abbakumova L.N. i dr. *Pediatrija. Zhurnal im. G.N. Speranskogo. Prilozhenie*. Pediatrics. The magazine named after G.N. Speransky. Application. – 2014. – V.93. – N.5. – P. 1-40. (in Russian)]
6. Кильдиярова Р.Р., Баженов Е.Л. Клинико-морфологические сопоставления хронического гастрита, гастродуоденита и язвенной болезни у детей // Российский педиатрический журнал. – 2000. – №2. – С. 15-18. [Kil'diyarova R.R., Bazhenov E.L. *Rossijskij pediatricheskij zhurnal*. Russian Pediatric Journal. – 2000. – N2. – P. 15-18. (in Russian)]
7. Кильдиярова Р.Р., Денисов М.Ю., Макарова В.И. и др. Детские болезни. Учебник под ред. Р.Р. Кильдияровой. М. – 2015. – С. 832. [Kil'diyarova R.R., Denisov M.YU., Makarova V.I. i dr. Detskie bolezni. Uchebnik - Pod red. R.R. Kil'diyarovoj. M. – 2015. – P. 832. (in Russian)]
8. Кильдиярова Р.Р. Значимость алиментарного фактора риска в развитии хронического гастродуоденита и язвенной болезни у детей. Вопросы детской диетологии. – 2018. – 16(1) – С. 44-48. [Kil'diyarova R.R. *Voprosy detskoj dietologii*. Questions of children's dietetics. – 2018. – 16(1) – P. 44-48. (in Russian)]

9. Клинические рекомендации российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению и реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани (первый пересмотр) // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – 13(1.2). – С. 137-210. [Klinicheskie rekomendacii rossijskogo nauchnogo medicinskogo obshchestva terapevtov po diagnostike, lecheniyu i reabilitacii pacientov s displaziyami soedinitel'noj tkani (pervyj peresmotr). *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza*. Medical Bulletin of the North Caucasus. – 2018. – 13(1.2). – P. 137-210. (in Russian)]
10. Коржов И.С. Течение заболеваний верхнего отдела пищеварительного тракта у детей с дисплазией соединительной ткани. Вопросы практической педиатрии. – 2008. – №3(3). – С. 25-30. [Korzhov I.S. *Voprosy prakticheskoj pediatrii*. Questions of practical pediatrics. – 2008. – N3(3). – P. 25-30. (in Russian)]
11. Лебеденко Т. Н. Клинико-морфологическая характеристика хеликобактер-ассоциированного гастрита у больных с дисплазией соединительной ткани. Автореф. дис.... канд. мед. наук. Омск. – 1999. – С. 22. [Lebedenko T. N. Kliniko-morfologicheskaja harakteristika helikobakter-associirovannogo gastrita u bol'nyh s displaziej soedinitel'noj tkani. (kand. dis.) Omsk. – 1999. – P. 22. (in Russian)]
12. Лузина Е.В, Ларева Н.В. Анемия и заболевания желудочно-кишечного тракта. Иванова И.И. Роль дисплазии соединительной ткани в формировании и течении патологии пищеварительной и мочевыделительной системы у детей и подростков // Терапевтический архив. – 2013. – Т.85(4). – С. 102-105. [Luzina E.V, Lareva N.V. *Terapev-ticheskij arhiv*. Therapeutic Archive. – 2013 – V.85(4). – P. 102-105.(in Russian)]
13. Филипенко П.С., Драпеза Е.М., Долгова И.Н., Малоокая Ю.С. Патология внутренних органов у лиц молодого возраста с синдромом дисплазии соединительной ткани // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – №5. – С. 16-18. [Filipenko P.S., Drapeza E.M., Dolgova I.N., Malookaja Ju.S. *Sovremennye naukoemkie tehnologii*. Modern high-tech technologies. – 2004. – N5. – P. 16-18. (in Russian)]
14. Харитонова Л.А., Григорьев К.И., Запруднов А.М. От идеи к реалиям: современные успехи детской гастроэнтерологии. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – № 11 (171). – С. 4-15. [Haritonova L.A., Grigor'ev K.I., Zaprudnov A.M. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*. Experimental and clinical gastroenterology. – 2019. – N11(171). – P. 4-15. (in Russian)]

**Информация об авторах**

*Осовецкая Юлиана Леонидовна* – ассистент кафедры пропедевтики детских болезней КИДЗ им. Н.Ф. Филатова Сеченовского университета Минздрава России. E-mail: osovetskaya_yu_l@staff.sechenov.ru

*Кильдиярова Рита Рафгатовна* – доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики детских болезней КИДЗ имени Н.Ф. Филатова Сеченовского университета Минздрава России. E-mail: kildiyarova_r_r@staff.sechenov.ru

*Легонькова Татьяна Ивановна* – доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: legonkova@yandex.ru

*Червякова Яна Игоревна* – студентка педиатрического факультета Сеченовского университета Минздрава России. E-mail: yana14112001@gmail.com

*Штыкова Ольга Николаевна* – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: doctoros@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.09.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.323-007.61-002.2* 3.1.21 Педиатрия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.19 EDN: TNBSTP*

# ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИЧЕСКОГО И НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ

**© Султанов И.С., Бобошко И.Е.**

*Ивановская государственная медицинская академия, Россия, 153012, Иваново, просп. Шереметевский, 8*

*Резюме*

**Цель.** Выявить особенности физического и нервно-психического развития детей 4-7 лет разных типов психосоциальной конституции с хроническим аденоидитом.

**Методика.** Исследование выполнено на базе оториноларингологического отделения областной детской больницы города Владимира. Проводилось анкетирование родителей детей, страдающих хроническим аденоидитом. Разделение детей по типу направленности психической активности осуществлялось совместно с психологом и педагогом по девяти бальной шкале. Дети, у которых экспертная оценка направленности психической активности колебалась в интервале 1-3 балла («направленность вовнутрь») были отнесены к подгруппе «интровертов», 4-6 баллов – к подгруппе «центровертов», 7-9 – к подгруппе «экстравертов» («направленность вовне»). Выборка детей выглядела следующим образом: экстраверты составили 36,8% от общего количества детей, интроверты 37,9%, центроверты 28,3%. Всем детям была проведена оценка физического развития с углубленной соматометрией и соматоскопией, оценка нервно-психического развития с углубленной психометрией.

**Результаты.** Для интровертов с хроническим аденоидитом был характерен микросоматический тип с дефицитом массы тела, снижение показателей тонкой моторики, активности в социальных контактах и пассивную социальную активность. Для экстравертов был характерен мезо- и макросоматический типы с избыточной массой тела, низкие показатели социальной активности, снижение крупно-моторной одаренности и зрительной памяти. У детей интро- и экстравертов с хроническим аденоидитом показаны нивелирование сильных и усугубление слабых сторон физической и нервно-психической организации, что характеризует особенности здоровья и социализации ребенка в целом.

**Заключение.** Клинико-функциональные различия течения хронического аденоидита у интро- и экстравертов являются основанием для создания дифференцированных подходов к медико-социальному сопровождению.

*Ключевые слова:* хронический аденоидит, психосоматическая конституция, интроверты, экстраверты, снижение резистентности

# CHARACTERISTICS OF THE PHYSICAL AND NEURO-MENTAL DEVELOPMENT OF PRESCHOOL CHILDREN WITH CHRONIC ADENOIDITIS

Sultanov I.S., Boboshko I.E.

*Ivanovo State Medical Academy, 8, Prosp. Sheremetevskij, 153012, Ivanovo, Russia*

*Abstract*

**Objective.** The purpose of the study was to identify the features of the physical and neuropsychic development of children aged 4-7 years of different types of psychosocial constitution with chronic adenoiditis.

**Methods.** The study was performed on the basis of the otorhinolaryngological department of the regional children's hospital in the city of Vladimir. Questioning of parents of children suffering from chronic adenoiditis was conducted. The division of children according to the type of orientation of mental activity was carried out jointly with a psychologist and a teacher on a nine-point scale. Children whose expert assessment of the direction of mental activity fluctuated in the range of 1-3 points ("inward orientation") were assigned to the "introvert" subgroup, 7-9 - to the "extrovert" subgroup ("outward orientation"). The

sample of children was as follows: extroverts made up 36.8% of the total number of children, introverts 37.9%, centrovers 28.3%. All children underwent an assessment of physical development with in-depth somatometry and somatoscopy, an assessment of neuropsychic development with in-depth psychometry.

**Results.** Introverts with chronic adenoiditis were characterized by a microsomatic type with a lack of body weight, a decrease in fine motor skills, activity in social contacts, and passive social activity. Extroverts were characterized by meso- and macrosomatic types with overweight, low rates of social activity, a decrease in large-motor endowment and visual memory. In children of intro- and extroverts with chronic adenoiditis, the leveling of the strengths and the aggravation of the weaknesses of the physical and neuropsychic organization are shown, which characterizes the characteristics of the health and socialization of the child as a whole.

**Conclusion.** Clinical and functional differences in the course of chronic adenoiditis in intro- and extroverts are the basis for creating differentiated approaches to medical and social support.

*Keywords:* chronic adenoiditis, psychosomatic constitution, introverts, extroverts, resistance reduction

## Введение

Приоритетным вопросом педиатрии является поиск подходов, являющихся основой индивидуальных различий в формировании тех или иных нарушений здоровья [2]. Конституция ребенка является важнейшим фактором, определяющим реактивность организма, играющим существенную роль в развитии заболеваний [4]. Наряду с социальными, психологическими и биологическими факторами внешней среды, способными стать пусковыми патогенетическими механизмами в развитии наиболее распространенных форм нарушений здоровья детей, важнейшее значение имеют конституциональные особенности ребенка. Конституциональные особенности, являясь единством соматических, психических и регуляторных свойств целостного организма, предопределяют адаптационный резерв ребенка к биологическим и социальным факторам среды [9]. Актуальность проблемы определяется стратегией развития отечественного здравоохранения, предусматривающей постепенный переход от стандартных программ профилактики, лечения и реабилитации подростков, к программам, учитывающим роль индивидуальных особенностей человека [5].

Хроническое воспаление глоточной миндалины (ХА) определяется как мультифакторный процесс, иммунопатологическим стартом которого является рецидивирующее инфекционное воспаление на фоне, как наследственной отягощенности, так и перекрестного инфицирования в организованном детском коллективе. Ряд исследователей отмечает, что развитие данного состояния нередко обусловлено транзиторными иммунодефицитными состояниями [1]. При этом, в разных странах распространенность хронического аденоидита у дошкольников регистрируются от 35 до 70%. В России хроническим аденоидитом страдает каждый 5 ребенок [1, 8]. Связь хронического аденоидита с поражением отдельных органов и систем крайне разнообразна, а число сопряженных заболеваний насчитывает несколько десятков. Конституционально обусловленные тип строения и зрелость функциональной активности лимфоэпителиального глоточного кольца во многом определяют характер течения и особенности клиники данного заболевания [3, 8].

Многочисленные исследования показывают, что качество жизни детей с хроническим аденоидитом резко снижено, что связано не только со снижением слуха, нарушением речи и задержкой нервно-психического развития, но и с тем обстоятельством, что по мере взросления ребенка эти показатели продолжают снижаться, прогрессивно снижая эмоциональный фон [6].

Цель исследования – выявить особенности физического и нервно-психического развития детей 4-7 лет разных типов психосоциальной конституции с хроническим аденоидитом.

## Методика

Исследование проводилось на базе оториноларингологического отделения областной детской клинической больницы города Владимир. Для реализации цели работы были подобраны 212 детей 4-7 лет с верифицированным диагнозом хронического аденоидита. Контрольной группой были 98 детей со сниженной резистентностью (болеющие острыми воспалительными заболеваниями (ОРЗ) верхних дыхательных путей 8 и более раз в год), без хронических заболеваний. Все дети были разделены на две группы: I группа – дети с хроническим аденоидитом; II группа – дети со

сниженной резистентностью (болеющие ОРЗ 8 и более раз в год). Внутри каждой группы, по результатам тестирования родителей по шкале направленности психической активности, дети были разделены по типам психоконституции [2]. Анкета отражала выраженные в баллах варианты поведения детей в разнообразных игровых ситуациях, проявления эмоциональной экспрессии, вербальной и физической агрессии, коммуникационные паттерны. Дошкольники, получившие 1-3 балла, были отнесены к подгруппе «интровертов», 7-9 – к подгруппе «экстравертов». В исследование включены дети интро- и экстраверты, требующие индивидуализации программ медико-социального сопровождения.

Всем детям проводилась оценка физического развития по общепринятой методике (измерение длины и массы тела) с углубленной соматометрией и соматоскопией. Соматометрические и соматоскопические методики включали измерения глубины, ширины и высоты костных полостей (черепа, грудной клетки, таза). Все приемы антропометрических измерений были унифицированы. Измерения производились между точно согласованными анатомическими точками по единообразной методике. При измерениях руководствовались антропометрическими точками на голове, туловище и конечностях (Martin K., 1928). Длинники измерялись с помощью ростомера, поперечники с помощью сантиметровой ленты и специальных циркулей, масса с помощью весов. Физическое развитие детей оценивалось на основании антропометрического исследования и сопоставления полученных параметров со стандартами физического развития. Всем обследованным детям проводилось определение типа конституции с использованием методики В.Г. Штефко и А.Д. Островского, адаптированной для детей раннего возраста Хазановой А.Б. и метода И.И. Бахрах. По сумме отклонений, выраженных в баллах, дети подразделялись на макро-, мезо- и микросоматотипов [7].

Оценка нервно-психического развития включала психометрию (речь, крупная и мелкая моторика, память, навыки, степень социальной зрелости) (тест Денвера) и оценку социализации детей (асоциальный, антисоциальный, пассивно и активно-социальный) (тест Залужного А.С.) [10].

Статистический анализ полученных результатов проводился в программе SPSS Statistics 10.1. Статистическую значимость различий в сравниваемых независимых выборках определили с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде M±m, где M – среднее групповое значение величины, m – ошибка средней величины. Для оценки различий критическим уровнем значимости принималось значение $p<0,05$.

## Результаты исследования

В целом дети интроверты, достоверно чаще чем экстраверты, относились к микро- и мезосоматическому типу и имели дефицит массы тела. У детей интровертов с хроническим аденоидитом в сравнении с интровертами со сниженной резистентностью достоверно реже встречался мезосоматический тип конституции, а у половины регистрировалась микросомия и дефицит массы тела I степени. У более половины экстравертов с хроническим аденоидитом (группа I) достоверно чаще встречалась макросомия, нормальное физическое развитие встречалось в два раза реже, чем у детей со сниженной резистентностью и у каждого 5 ребенка регистрировался избыток массы тела I или II степени, что достоверно подтверждено. При анализе антропометрических показателей выявлены достоверные различия: для интровертов обеих групп свойственны минимальные значения ширины и глубины полостей черепа и грудной клетки, при преобладании значений длины черепа; для экстравертов были характерны наибольшие значения глубины и ширины всех полостей (череп, грудная клетка). Статистически значимые различия фиксировались по соотношениям «ширина/глубина черепа», «длина /ширина черепа», «длина/глубина черепа». Показатели фронтальных осей черепа («длина/ширина»), были наибольшими у интровертов – долихоцефалия, и наименьшими у экстравертов – брахицефалия (табл. 1).

При оценке нервно-психического развития детей с хроническим аденоидитом установлено, что интроверты с хроническим аденоидитом имели достоверно худшие показатели мелко моторной одаренности, абстрактного мышления и смысловой памяти, более 80% из них проявляли пассивно социальное поведение и снижение социальных контактов, что было достоверно выше, чем у детей интровертов II группы. Экстраверты с хроническим аденоидитом в отличие от экстравертов со сниженной резистентностью демонстрировали достоверно худшие показатели крупно моторной одаренности, снижались показатели понятийного мышления, слуховой и зрительной памяти (табл. 2).

Таблица 1. Показатели физического развития детей разных типов психоконституции I и II группы

| Показатели физического развития | Тип направленности психической активности | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Интроверты I группы (n=74) | Интроверты II группы (n=51) | Экстраверты I группы (n=78) | Экстраверты II группы (n=47) |
| Типы соматической конституции по методике И. Бахрах (%) | | | | |
| Макросоматический | 8,11*** | 13,73 | 80,77** | 12,77 |
| Мезосоматический | 5,41* | 74,51 | 15,38** | 70,21 |
| Микросоматический | 86,48*,*** | 11,76 | 3,85** | 17,02 |
| Антропометрические показатели | | | | |
| Окружность головы | 47,3±1,21*** | 49,8±1,25 | 50,3±0,17 | 50,1±0,16 |
| Окружность груди | 53,4±0,02** | 53,9±0,05 | 57,8±0,36 | 56,4±0,04 |
| Ширина черепа | 11,2±0,21*** | 11,6±0,41 | 13,8±0,12 | 13,7±0,22 |
| Глубина черепа | 17,2±0,52*** | 17,8±0,44 | 19,2±0,16 | 19,1±0,54 |
| Длина черепа | 21,8±0,09*** | 22,1±0,11 | 19,1±0,31 | 19,2±0,12 |
| Соотношение длины к ширине черепа | 1,94±0,03*** | 1,95±0,64 | 1,34±0,07 | 1,35±0,11 |
| Соотношение длины к глубине черепа | 1,27±0,05*** | 1,29±0,35 | 0,97±0,02 | 0,98±0,12 |
| Соотношение ширины к глубине черепа | 0,65±0,01*** | 0,63±0,11 | 0,72±0,04 | 0,71±0,02 |
| Соотношение ширины к глубине груди | 1,36±0,41 | 1,38±0,34 | 1,27±0,11 | 1,28±0,41 |
| Варианты физического развития (%) | | | | |
| Нормальное | 39,19* | 82,35 | 34,62** | 82,98 |
| Дефицит массы тела, I ст. | 60,81*,*** | 13,73 | 1,28 | 6,38 |
| Избыток массы тела, I ст. | 0*** | 3,92 | 52,56 | 10,64 |
| Избыток массы тела, II ст. | 0*** | 0 | 11,54** | 0 |

Примечание: *p – показатели интровертов группы I относительно детей интровертов группы II; **p – показатели экстравертов группы I относительно детей экстравертов группы II; ***p – показатели интровертов группы I относительно экстравертов группы I

Таблица 2. Показатели нервно-психического развития (НПР) детей разных типов психоконституции I и II групп.

| Показатели НПР | Психический тип | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Интроверты I группы (n=74) | Интроверты II группы (n=51) | Экстраверты I группы (n=78) | Экстраверты II группы (n=47) |
| Показатели психического развития (баллы) | | | | |
| Грубая моторика | 90,9 (3,31)* | 110,5 (1,52) | 87,6 (1,48) | 112,5 (5,21)** |
| Тонкая моторика | 79,9 (3,06)*,*** | 110,0 (1,14) | 78,3 (1,93) | 112,0 (5,22)** |
| Речь | 89,2 (0,99)* | 111,2 (0,53) | 89,0 (2,86) | 113,0 (4,61)** |
| Активности в социальных контактах и играх | 78,8 (1,91)*,*** | 109,0 (2,89) | 83,9 (1,14) | 113,3 (4,67)** |
| Наглядно-образное мышление | 8,29 (0,63)* | 7,55 (0,71) | 7,11 (0,05) | 7,65 (0,09)** |
| Понятийное мышление | 3,02 (0,28)*,*** | 2,11 (0,21) | 1,80 (0,11) | 2,10 (0,08)** |
| Абстрактное мышление | 2,71 (0,16)* | 2,50 (0,15) | 2,86 (0,08) | 2,54 (0,03)** |
| Внимание | 2,46 (0,21)*** | 1,93 (0,20) | 1,76 (0,08) | 1,90 (0,11)** |
| Память слуховая | 5,25 (0,22)*** | 4,96 (0,21) | 4,35 (0,09) | 4,87 (0,11)** |
| Память зрительная | 3,71 (0,44)*** | 4,23 (0,35) | 5,72 (0,15) | 4,19 (0,06)** |
| Память смысловая | 6,94 (0,47)* | 6,51 (0,44)* | 5,75 (0,13) | 6,55 (0,45) |
| Тип поведения по методике Залужного А.А. (%) | | | | |
| Пассивно социальное | 83,7* | 72,6 | 70,5 | 25,5** |
| Активно социальное | 16,3*,*** | 57,4 | 29,5 | 74,5** |

Примечание: *p – показатели интровертов группы I относительно детей интровертов группы II; **p – показатели экстравертов группы I относительно детей экстравертов группы II; ***p – показатели интровертов группы I относительно экстравертов группы I

## Обсуждение результатов исследования

Полученные результаты демонстрируют особенности физического и нервно-психического развития детей интро- и экстравертивных типов психоконституции. Для интровертов в целом характерен микросоматический тип с тенденцией к снижению массы тела, минимальные значения ширины и глубины полостей черепа и грудной клетки, преобладание значений длины черепа. У экстравертов чаще встречалась макросомия, избыток массы тела I и II степени, наибольшие значения глубины и ширины черепа и грудной клетки. У детей интровертов с хроническим аденоидитом по сравнению с интровертами без него достоверно реже встречался мезосоматический тип конституции, а у более половины регистрировалась микросомия и дефицит массы тела I степени. Более чем у половины экстравертов с хроническим аденоидитом достоверно чаще встречалась макросомия, нормальное физическое развитие встречалось в два раза реже, чем у детей экстравертов без него, и у каждого 5 ребенка регистрировался избыток массы тела I или II степени. У детей интровертов с хроническим аденоидитом (I группа), достоверно ухудшались показатели мелко-моторной одаренности, абстрактного мышления и смысловой памяти по сравнению с интровертами II группы. Из них 80% проявляли пассивно социальное поведение и снижение социальных контактов, что было достоверно выше, чем у интровертов II группы. Экстраверты с хроническим аденоидитом (I группа) в отличии экстравертов II группы демонстрировали достоверно худшие показатели крупно моторной одаренности, более низкие показатели понятийного мышления, слуховой и зрительной памяти.

## Заключение

У детей интро- и экстравертов 4-7 лет без хронического аденоидита установлены различия морфологической организации: интровертам чаще был свойственен астенический и микросоматический тип, среди нарушений физического развития – дефицит массы тела, экстравертам, напротив – мезосоматический, мышечный и торакальный тип телосложения, избыток массы тела. В вариантах эмоциональных реакций и рисунке поведения дети интроверты демонстрировали пассивность в социальных контактах, отсутствие физической и минимальную вербальную агрессию, высокую дисциплину, в интеллектуальной деятельности, преобладание логического компонента мышления и мелко-моторную одаренность; экстраверты, напротив были социально активны, вплоть до физической агрессии и непослушания, у них преобладало наглядно-образное мышление и высокие показатели крупной моторики. Отклонения физического и нервно-психического развития у детей с хроническим аденоидитом соответствовали конституциональным особенностям здоровых детей, но встречались гораздо чаще. Так, у интровертов с хроническим аденоидитом в три раза увеличивалось число детей с дефицитом массы тела и микросомией, существенно снижалась социальная активность, ухудшались показатели абстрактного мышления, внимания, тонкой моторики и смысловой памяти. У экстравертов с хроническим аденоидитом среди вариантов нарушения физического развития нарастал избыток массы тела и макросомия, повышался уровень импульсивности, снижалась дисциплинированность, крупно моторная одарённость, понятийное и наглядно-образное мышление. Установлено усиление ряда слабых и нивелирования сильных конституциональных признаков физического и нервно-психического развития у детей интро- и экстравертов с хроническим аденоидитом. Усиление слабых конституциональных особенностей необходимо учитывать при включении в индивидуализированную программу реабилитации, составляющую основу амбулаторного сопровождения пациента и включающую рекомендации по организации режима дня, питанию, воспитанию, кинезотерапии.

Так, для ребенка интроверта с хроническим аденоидитом необходимо создать условия эмоциональной поддержки, выбрать демократичный тип воспитания, тренируя его коммуникативные навыки и укрепляющие самооценку. В рационе питания должны быть продукты, стимулирующие аппетит, в программе физического воспитания необходим акцент на тренировку координированности, ловкости, пластичности. Для ребенка экстраверта оптимальным будет сдержанный, автократичный тип воспитания, тренировка эмпатийности, логичности, последовательности, с предоставлением возможности позитивной эмоциональной разрядки. Необходимо тренировать мелкую моторику и логику, развивать смысловую память и абстрактное мышление, избегать в рационе питания продуктов, приводящих к стимуляции и перевозбуждению.

## Литература (references)

1. Аристова-Боровикова, О.В. Факторы риска и особенности клинической картины острого риносинусита в сочетании с патологией глоточной миндалины у детей/ О.В. Аристова-Боровикова, И.И. Климова //

Российская оториноларингология. – 2017. – №6. – С. 61-65. [Aristova-Borovikova, O.V. *Rossijskaja otorinolaringologija.* Russian rhinology. – 2017. N3. – P. 61-65. (in Russian)]
2. Бобошко И.Е. Конституциональные особенности детей школьного возраста. Системный анализ и дифферцированные программы формирования их здоровья / И.Е. Бобошко, Л.А. Жданова, Е.В. Шелкопляс; Иваново, ГБОУ ВПО ИВГМА Минздрава России, 2015. – 204 с. [BoboshkoI.E. *Konstitucional'nye osobennosti detej shkol'nogo vozrasta. Sistemnyj analiz i differcirovannye programmy formirovanija ih zdorov'ja*. Constitutional features of school-age children. System analysis and differentiated programs for the formation of their health. Ivanovo, GBOU VPO IVGMA of the Ministry of Health of Russia. 2015. – 204 p. (in Russian)]
3. Бойко Н.В., Летифов Г.М., Ким А.С., Стагниева И.В. Оценка эффективности лечения острого тонзиллофарингита при острых респираторных вирусных инфекциях у детей. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2018. №97. – С. 168-172. [Bojko N.V., Letifov G.M., Kim A.S., Stagnieva I.V. *Pediatrija. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky. – 2018. N97. – P. 168-172. (in Russian)]
4. Воробьева А.В. Типы конституции у детей // Вестник новых медицинских технологий, электронный журнал. – 12.09.18. URL:http://vnmt.ru/Bulletin/E2018-5/1-3.pdf [Vorob'eva A.V. *Vestnik novyh medicinskih tehnologij, jelektronnyj zhurnal* . Bulletin of new medical technologies, electronic journal. URL:http://vnmt.ru/Bulletin/E2018-5/1-3.pdf (in Russian)]
5. Ковалева, Е.И. О диагностике аденоидитов у детей/ Е.И. Ковалева // Российская оториноларинголгия. – 2014. – №1. – С.102-103. [Kovaleva, E.I. *Rossijskaja otorinolaringologija.* Russian rhinology. – 2014. N1. – P. 102-103. (in Russian)]
6. Комплексная терапия аденоидита у детей / М.Р. Богомильский, Е.Ю. Радциг, К.К. Баранов, А.Ю. Матвеева, А.А. Пихуровская //Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2017. – №4. – С. 46-49. [Bogomil'skij M.R., Radcig E.Ju., Baranov. K.K. *Pediatrija. Prilozhenie k zhurnalu Consilium Medicum*. Pediatrics. Supplement to the journal Consilium Medicum. – 2017. – N4. – P. 46-49. (in Russian)]
7. Кучма В. Физическое развитие детей и подростков Российской Федерации. Выпуск VII / В. Кучма и др. - М.: Гэотар-Медиа, 2019. – 176 с. [Kuchma V. *Fizicheskoe razvitie detej i podrostkov Rossijskoj Federacii.* Physical development of children and adolescents of the Russian Federation. – 2019. – 176 p. (in Russian)]
8. Лиманский, С.С. Аденоиды и аденосинусит // Материалы XVI Российского конгресса оториноларингологов. – Москва, 2017. – С. 38-40. [Limanskij, S.S. *Materialy XVI Rossijskogo kongressa otorinolaringologov*. Materials of the XVI Russian Congress of Otorhinolaryngologists. – Moscow, 2017. – P. 38-40. (in Russian)]
9. Николаев В.Г., Винник Ю.Ю., Медведева Н.Н. Конституциональный подход в изучении здоровья человека при патологических состояниях // Вестник Московского университета. – 2013. – Т.23, №4. – С. 109-114. [Nikolaev V.G., Vinnik Ju.Ju., Medvedeva N.N. *Vestnik Moskovskogo universiteta.* Bulletin of Moscow University. – 2013. – V.23, N4. – P. 109-114. (in Russian)]
10. Ткачук Е.А., Мартынович Н.Н. Нервно-психическое развитие детей. Основные клинические проявления поражений ЦНС: учебное пособие для студентов/ Е. А. Ткачук, Н. Н. Мартынович; ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра педиатрии. – Иркутск: ИГМУ, 2021. – 62 с. [Tkachuk E.A., Martynovich N.N. *Nervno-psihicheskoe razvitie detej. Osnovnye klinicheskie projavlenija porazhenij CNS: uchebnoe posobie dlja studentov*. Neuropsychic development of children. The main clinical manifestations of central nervous system lesions: a textbook for students. 2021. – 62 p. (in Russian)]

**Информация об авторах**

*Султанов Исабала Султанович* – аспирант кафедры поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: isa_sultanov_96@mail.ru

*Бобошко Ирина Евгеньевна* – доктор медицинских наук, доцент кафедры поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: i.boboshko@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 616.411-007.59-089* 3.1.11 Детская хирургия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.20 EDN: TNENVQ*

# ЗАВОРОТ БЛУЖДАЮЩЕЙ СЕЛЕЗЁНКИ С ЕЁ НЕКРОЗОМ У РЕБЁНКА

**© Лабузов Д.С.[1], Степанов В.Н.[2], Абросимова Т.Н.[2], Киселёв И.Г.[2], Мельникова В.М.[1], Артёменкова Е.И.[1]**

[1]*Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*
[2]*Смоленская областная клиническая больница, Россия, 214018, Смоленск, пр. Гагарина, 27*

*Резюме*

**Цель.** Представить описание собственного редкого клинического наблюдения блуждающей селезёнки, с её заворотом, некрозом, и сдавлением нисходящего отдела толстой кишки у ребёнка.

**Методика**. Проведен анализ информации, полученной при клиническом наблюдении случая заворота блуждающей селезёнки с её некрозом и сдавлением нисходящего отдела толстой кишки у ребёнка.

**Результаты.** Девочка 4 лет поступила с абдоминальным болевым синдромом и синдромом пальпируемой опухоли, рвотой, задержкой стула более трёх суток. На основании клинических и эхографических данных выставлен предварительный диагноз: синдром «пальпируемой опухоли», колоностаз и подозрение на аномалии развития толстого кишечника. После подготовки выполнена ирригография: средняя треть нисходящей ободочной кишки стойко оттеснена образованием, прилежащим к кишке на протяжении 6 см. При повторном УЗИ: образование 94×43 мм в проекции средней трети нисходящей кишки, без кровотока, селезёнка в типичном месте не определяется. Интраоперационные находки: заворот атипично расположенной селезёнки с некрозом и окутыванием сальником. Выполнена спленэктомия и резекция прилежащего сальника. В послеоперационном периоде имели место проявления постспленэктомического гипоспленизма.

**Заключение.** У ребенка имело место редчайшая патология – заворот блуждающей селезёнки с её некрозом и сдавлением нисходящей ободочной кишки. Настоящий клинический случай и публикации в медицинской литературе показывают, насколько блуждающая селезенка остается сложной диагностической проблемой, особенно у детей.

*Ключевые слова:* дети, блуждающая селезенка, заворот

# WANDERING SPLEEN TORSION WITH NECROSIS IN CHILDREN

Labuzov D.S.[1], Stepanov V.N.[2], Abrosimova T.N. [2], Kiselev I.G.[2], Melnikova V.M.[1], Artyomenkova E.I.[1]

[1]*Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*
[2]*Smolensk Regional Hospital, 27, Gagarina Av, 214018, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To present a description of our own rare clinical observation of a wandering spleen with its torsion, necrosis, and compression of the descending colon in a child.

**Methods.** Information analysis of clinical observation of the wandering spleen torsion with necrosis and compression of the descending colon in a child was carried out.

**Results.** A 4-year-old girl was admitted with abdominal pain and palpable tumor syndrome, vomiting, stool retention over three days. Based on clinical and echographic data, the preliminary diagnosis was made: "palpable tumor" syndrome, colonostasis and suspected colonic abnormalities. After preparation, irrigography was performed: the middle third of the descending colon was persistently displaced by a 6-cm mass adjacent to the colon. Repeated ultrasound scan revealed reveaced 94×43 mm mass in the projection of the middle third of the descending colon, no blood flow, spleen was in a typical place. Intraoperative findings were atypically located spleen with necrosis and omentum wrapping. Splenectomy and resection of adjacent omentum were performed. Post-splenectomy manifestations of post-splenectomic hyposplenism occurred in the postoperative period.

**Conclusions.** The child had the rarest pathology – spleen volvulus with its necrosis and compression of the descending colon. The present clinical case and publications in medical literature show that a wandering spleen remains a difficult diagnostic problem, especially in children.

*Keywords:* children, wandering spleen, congestion

## Введение

К редким патологическим состояниям относится блуждающая селезенка или патологически подвижная, мигрирующая селезенка. Излишняя подвижность органа и его перемещение в брюшной полости связана с врожденной недостаточностью фиксирующего связочного аппарата. Из-за неполной фиксации желудочно-селезеночной и селезеночной связок селезенка может изменить свое положение в животе [12]. Среди осложнений блуждающей селезенки встречаются заворот селезенки, т.е. перекрут ее ножки вокруг оси с развитием гемодинамических нарушений в органе. Селезеночные вены сдавливаются первыми ввиду тонкости стенки и более низкого давления в них. Эти изменения вызывают набухание селезенки и растяжение капсулы, что и приводит к появлению специфических симптомов. И без того редкая в клинической практике патология может сочетаться с заворотом поджелудочной железы и желудка [9,10]. Клинические проявления могут быть разнообразными и неспецифическими. [1, 3]. В острых случаях у детей резко появляются боли в животе, тошнота, рвота, повышение температуры [5]. Более половины пациентов поступают с подозрением на острые процессы в животе, и развёрнутая клиника заставляет прибегать к активной хирургической тактике. При медленном развитии перекрута ножки селезенки патология длительное время может протекать малосимптомно, что приводит к поздней диагностике. [9]. Из дополнительных методов диагностики значение имеет УЗИ с определением кровотока в сосудах селезенки и интрапаренхиматозно [3, 6] и компьютерная томография [8]. Лечение блуждающей селезенки сводится к спленэктомии [4, 8, 11], при отсутствии признаков некроза и грубых циркуляторных нарушений паренхимы селезенки выполняются органосохраняющие операции с деторсией и спленопексией [3, 4].

Цель исследования – представить описание собственного редкого клинического наблюдения блуждающей селезёнки, её заворотом с некрозом и сдавлением нисходящего отдела толстой кишки у ребёнка.

## Методика

Пациентка, девочка 4 лет поступила в клинику детской хирургии с абдоминальным болевым синдромом и синдромом пальпируемой опухоли, рвотой, задержкой стула более 3-х суток.

При обследовании пациентки, для диагностики причин абдоминального болевого синдрома и выяснения причин синдрома пальпируемой опухоли применялись следующие методы: сбор анамнеза, общеклинический осмотр и обследование, лабораторные и инструментальные исследования.

С учётом клинических данных и выполненных дополнительных методов в динамике выставлен предположительный диагноз блуждающая селезенка с компрессией нисходящей ободочной кишки. Выполнена диагностическая лапароскопия, лапаротомия и ввиду необратимых изменений органа – спленэктомия.

## Описание клинического случая

Девочка, 4 лет, поступила в детское хирургическое отделение Областной клинической больницы города Смоленска, через 10 ч. от появления болей в животе, однократной рвоты. На момент поступления предъявляла жалобы на боли в животе в околопупочной области. Из анамнеза: ребёнок находился у бабушки несколько последних дней и около 14:00 в день поступления ребёнок пожаловался на боли в животе, отмечено снижение аппетита, практически отказалась от обеда. Была вялой, малоактивной, указания на многократную рвоту. После обращения в районную больницу девочка направлена в клинику детской хирургии с подозрением на инвагинацию кишечника. Данные физикального исследования: состояние ребенка расценено как средней тяжести, температура тела 36,7$^0$С. Рост – 103 см, вес – 14 кг, индекс массы тела – 13,2 кг/м$^2$ , 1,63 SD ИМТ – дефицит веса. Язык влажный, обложен умеренно белесоватым налетом. Кожные

покровы бледные, периорбитальные тени. Живот вздут, симметричный, при пальпации – болезненный в левых отделах. Симптомы раздражения брюшины не определяются. Пальпаторно слева от пупка определяется образование 8×4 см овальной формы, смещаемое, пальпация его безболезненна. Со слов родственников стул в течение последних трёх дней однократно скудный, плотный, метеоризм. После очистительной клизмы в приёмном отделении получен скудный твёрдый стул (тип 1 по бристольской шкале), отходили газы. Периодическая задержка и уплотнение стула отмечаются с 2-х летнего возраста. В общем анализе крови лейкоцитоз (до $16{,}8\times10^9$/л) с нейтрофилёзом (до 73%), СОЭ – 10 мм/ч, тромбоциты $153\times10^3$, показатели гемоглобина (110 Г/л) и эритроцитов ($3{,}54\times10^{12}$/л) на нижней границе нормы. В общем анализе мочи без патологических сдвигов. В биохимическом исследовании крови повышение АСТ (до 79 Ед/л). При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости: печень, желчный пузырь без структурных изменений, селезёнка 81×32 мм (умеренная спленомегалия), поджелудочная железа не визуализирована, обильное газонаполнение кишечника, в просвете толстой кишки обилие каловых масс (образования в просвете толстой кишки). На основании вышеуказанных данных выставлен предварительный диагноз при поступлении: обтурационная кишечная непроходимость, синдром «пальпируемой опухоли», колоностаз и подозрение на аномалии развития толстого кишечника. В течение 4-ёх дней проводилась консервативная терапия: инфузионная терапия (глюкозо-солевые растворы), сифонные клизмы для устранения колоностаза и подготовки к рентгенологическому исследованию толстой кишки. На фоне проведения клизм положительная динамика: обильный с плотными комочками стул, отхождение газов, живот мягкий и менее вздутый, боли в животе не беспокоят. Но к 3-им суткам наблюдались субфебрилитет, эпизоды фебрильной лихорадки, примесь крови в промывных водах и возобновление периодических болей в животе. Данное состояние расценено, как проявления колита и была назначена антибактериальная терапия. Выполнена ирригография: на расправлении при тугом наполнении средняя треть нисходящей ободочной кишки стойко оттеснена образованием, прилежащим к кишке на протяжении 6 см, просвет кишки на этом протяжении сужен, до места сужения имеется расширение, сигмовидная кишка умеренно удлинённая и несколько расширена (рис. 1).

Рис. 1. Ирригограмма, выполненная у девочки с заворотом блуждающей селезёнки

При пальпации живота определяется подвижное объемное образование в левой половине живота, смещаемое. Выполнено ультразвуковое исследование органов брюшной полости: определяется образование 94×43 мм в проекции средней трети нисходящей кишки, без кровотока при доплеровском картировании, селезёнка в типичном месте не определяется. Учитывая все вышеизложенные данные, заподозрено наличие блуждающей селезёнки, со сдавлением

нисходящей кишки. Выполнена диагностическая лапароскопия: при ревизии брюшной полости в левой подвздошной области, проекции средней трети нисходящей кишки определяется увеличенная тёмно-багровая селезёнка, плотно окутана отёчным, с участками кровоизлияний сальником. В полости таза имеется серозно-геморрагический выпот – аспирировано до 40 мл. Произведена косая лапаротомия в левом подреберье. В рану выведена селезёнка, плотно окутанная изменённым сальником, перекрученная более чем на $320^0$ и на явно удлиненной сосудистой ножке (рис. 2). Заворот устранен, ножка селезенки прошита и перевязана, выполнена спленэктомия и резекция прилежащего сальника в пределах здоровых тканей. Добавочные селезёнки не обнаружены. Аутотрансплантация селезёнки не выполнялась ввиду необратимых изменений в паренхиме. Рана послойно ушита с оставлением страховочного трубчатого дренажа. Удаленные макропрепараты (измененная селезёнка и порция сальника) направлены на патоморфологическое исследование. При патогистологическом исследовании макропрепаратов: геморрагический инфильтрат селезёнки с тромбозом селезёночной вены в области ворот, очаговый продуктивный оментит.

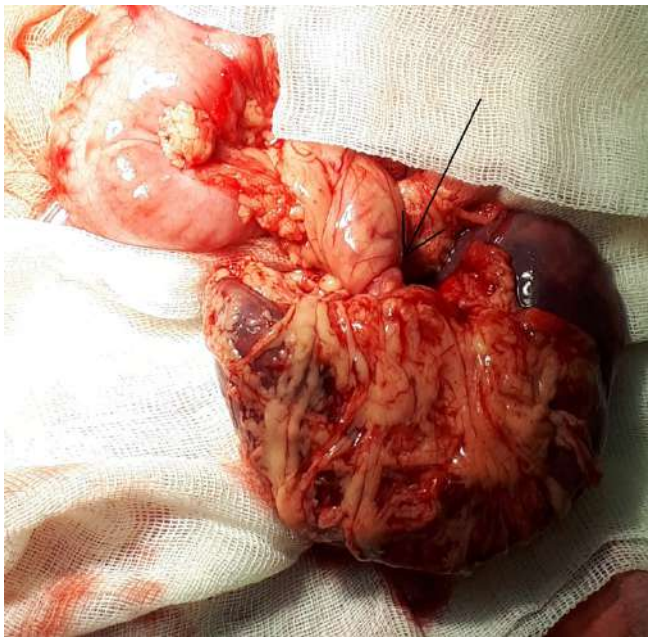


Рис. 2. Вид селезёнки, выведенной в рану. Стрелкой указано место заворота

В раннем послеоперационном периоде девочка находилась в палате интенсивной терапии. Получала плановое обезболивание, седацию, инфузионную и антибактериальную терапию. К началу 2-х суток послеоперационного периода в контрольном общем анализе крови выраженный тромбоцитоз – до $983\times10^3$, лейкоцитоз со сдвигом влево – $25{,}0\times10^9$, сегменты 85%, в коагулограмме патологических сдвигов не отмечено. В биохимическом исследовании крови снижение общего белка до 53 г/л, увеличение АСТ до 106 Ед/л. Данные изменения расценены как постспленэктомический статус. В течении 6 дней проводилась гепаринопрофилактика. Швы сняты на 9-е сутки, заживление раны первичным натяжением. Выписана из стационара с рекомендациями: контроль общего анализа крови 1 раз в 14-21 день, обращение к педиатру при первых симптомах заболеваний, вакцинация против пневмококковой и менингококковой инфекции, наблюдение иммунолога, гематолога. Осмотрена через 1 и 2 года после выписки. Состояние удовлетворительное, жалоб нет. Стул регулярный, редко эпизоды задержки связанные с погрешностью в питании. При контрольных УЗИ брюшной полости патологических образований не обнаружено, селезенка не лоцируется.

## Обсуждение клинического случая

В описанном наблюдении мы столкнулись с редкой патологией – блуждающей селезёнкой. Причиной такой патологической подвижности являлись врожденная несостоятельность фиксирующего связочного аппарата и удлинённая сосудистая ножка [12]. Ввиду таких изменений,

приводящих к гипермобильности селезёнки, произошёл её заворот с последующим некрозом и сдавлением нисходящей ободочной кишки. Клинические данные и результаты УЗИ брюшной полости указывали на колоностаз. Пальпируемое образование было принято за каловый камень. Данные факты позволили предположить аномалии развития толстого кишечника и побудили к проведению ирригографии. Специфических признаков на УЗИ, в виде эхолокации перекрута сосудов не выявлено, их обнаружение весьма затруднительно и происходит лишь в единичных случаях [9]. При ирригографии – оттеснение средней трети нисходящей ободочной кишки вероятнее образованием из вне. Просвет кишки на этом протяжении сужен, до места сужения имеется расширение, что в полной мере объясняет лидирующие клинические симптомы в виде колоностаза. При повторном ультразвуковом исследовании органов брюшной полости заподозрено наличие блуждающей селезёнки и выставлены показания к лапароскопии, с последующей лапаротомией. Интраоперационные находки указывали на необратимые изменения в селезёнке, которые развились, возможно, ещё до поступления пациентки в стационар. Проявления вторичного колоностаза были связаны со сдавлением кишки прилежащей аномально расположенной селезёнкой. В послеоперационном периоде отмечались: выраженный тромбоцитоз, повышение уровня трансаминаз и снижение уровня общего белка. Вышеуказанные проявления указывают на развитие постспленэктомического гипоспленизма [2].

## Заключение

Представленный клинический случай интересен тем, что у ребенка имело место редчайшая патология – заворот блуждающей селезёнки с её некрозом и сдавлением нисходящей ободочной кишки. Клинические проявления этой патологии могут быть разнообразными, зависят от выраженности ишемических нарушений в самом органе и взаимоотношений с соседними. В нашем случае на первое место в клинике выступали проявления связанные со сдавлением нисходящей ободочной кишки. Настоящий клинический случай и публикации в медицинской литературе показывают, насколько блуждающая селезенка всё еще остается сложной диагностической проблемой, особенно у детей. По праву эта многоликая патология носит названия – «Энигма медицины» и «Великая притворщица».

### Литература (references)


1. Афуков И.В., Коваленко А.А., Арестова С.В. и др. Заворот селезёнки у ребёнка // Детская хирургия. – 2015. – Т.19, №1. – С. 54-55. [Afukov I.V., Kovalenko A.A., Arestova S.V. i dr. *Detskaya hirurgiya*. Pediatric surgery. – 2015. – V.19, N1. – P. 54-55. (in Russian)]
2. Морозов Д.А., Клюев С.А. Постспленэктомический гипоспленизм // Вестник РАМН. – 2015. –Т.70, №4. – С. 413-418. [Morozov D.A., Kljuev S.A. *Vestnik RAMN*. RAMS Bulletin. – 2015. – V.70, N4. – P. 413-418. (in Russian)]
3. Ольхова Е.Б., Соколов Ю.Ю., Шувалов М.Э. и др. Блуждающая селезенка у ребенка (клиническое наблюдение) // Радиология-Практика. – 2015. – Т.53, №5. – С. 82-85 [Ol'hova E.B., Sokolov Ju.Ju., Shuvalov M.Je. i dr. *Radiologija-Praktika*. Radiology – Practice. – 2015. – V.53, N5. – P. 82-85. (in Russian)]
4. Соколов Ю. Ю., Коровин С. А., Ольхова Е. Б. и др. Лапароскопическая спленопексия у детей с перекрутом блуждающей селезенки // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т.6, №4. – С. 82-87 [Sokolov Ju. Ju., Korovin S. A., Ol'hova E. B. i dr. *Rossijskij vestnik detskoj hirurgii, anesteziologii i reanimatologii*. Russian Bulletin of Pediatric Surgery, Anesthesiology and Resuscitation. – 2016. – V.6, N4. – P. 82-87 (in Russian)]
5. Тандилава Р.З., Бахтадзе Т.И., Коридзе Л.Т. и др. Перекрут трех блуждающих добавочных селезёнок у ребёнка // Анналы хирургии. – 2014. – №5. – С. 44-47. [Tandilava R.Z., Bahtadze T.I., Koridze L.T. i dr. *Annaly hirurgii*. Annals of Surgery. – 2014. – N5. – P. 44-47. (in Russian)]
6. Ayaz U.Y., Dilli A., Ayaz S. et al. Wandering spleen in a child with symptoms of acute abdomen: ultrasonographic diagnosis. Case report // Medical Ultrasonography. – 2012. – V.14, N1. – P. 64-66.
7. Faridi M.S., Kumar A., Inam L. et al. Wandering spleen a diagnostic challenge: case report and review of literature // Malaysian Journal of Medical Sciences. – 2014. – V.3, N21. – P. 57-60.
8. Fiquet-Francois C, Belouadah M, Ludot H, et al. Wandering spleen in children: multicenter retrospective study // Journal of Pediatric Surgery. – 2010. – V.18, N7. – P.19-24.

9. Gorsi U., Bhatia A., Gupta R., et al. Pancreatic volvulus with wandering spleen and gastric volvulus: an unusual triad for acute abdomen in a surgical emergency // Saudi Journal of Gastroenterology. – 2014. – V.20, N3. – P. 195-198.
10. Karaosmanoglu A.D., Onur M.R., Karcaaltıncaba M. et al. Wandering spleen with volvulus of pancreas // Journal of medical ultrasonics. – 2015. – V.42, N3. – P. 413-416.
11. Osher Cohen, Arthur Baazov, Inbal Samuk et al. Emergencies in the Treatment of Wandering Spleen // The Israel Medical Association journal. – 2018. – V.20, N6. – P. 354-357.
12. Varga I., Galfiova P., Adamkov M. et al. Congenital anomalies of the spleen from an embryological // Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. – 2009. – V.15, N12. – P. 269-276.

**Информация об авторах**

*Лабузов Дмитрий Сергеевич* – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой детской хирургии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: docyzzz@list.ru

*Степанов Виктор Николваевич* – заведующий отделением детской хирургии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». E-mail: vns61@yandex.ru

*Абросимова Татьяна Николаевна* – врач отделения детской хирургии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». E-mail: Atn2019@mail.ru

*Киселев Игорь Геннадьевич* – врач отделения детской хирургии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница». E-mail: kiselev.doc@yandex.ru

*Мельникова Валерия Максимовна* – студентка педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: melnikovavmv@mail.ru

*Артёменкова Екатерина Игоревна* – студентка педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: artemenkova.ekaterina32@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.09.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК: 616.36-073.756.8* 3.1.25 Лучевая диагностика

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.21 EDN: UGZIUG*

# МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ СТУПЕНЬ В ОЦЕНКЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ ДИФФУЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ

**© Лозбенев Ф.С.[1], Морозова Т.Г.[2]**

*[1]Смоленская центральная районная больница, Россия, 214050, Смоленская обл., д. Стабна, ул. Больничная, 6*
*[2]Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Оценить возможности магнитно-резонансной томографии в оценке алкогольной природы диффузных заболеваний печени.

**Методика.** С 2019 по 2023 гг. обследованы пациенты с АБП, находившихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении ОГБУЗ «Клиническая больница №1». Предварительный клинический диагноз устанавливался по данным анамнеза, теста CAGE, клинико-лабораторным показателям, среди пациентов было 76 мужчин и 52 женщин. Группа сравнения – 57 пациентов с другой патологией желудочно-кишечного тракта и абсолютно здоровые – 10.

**Результаты.** При поступлении и мониторинге за пациентами установлена высокая корреляционная связь количественных показателей диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) с эластографией и средняя корреляционная связь с данными биопсии. Проведена оценка диагностический и прогностической значимости разработанных критериев ДВИ при МРТ печени у пациентов с АБП при поступлении для количественной оценки. При сопоставлении результатов качественной оценки ДВИ печени при МРТ с данными теста CAGE, результатов опроса пациентов и родственников об употреблении спиртных напитков, установлена высокая корреляционная связь ограничения диффузии в печени при МРТ и продолжающимся приемом спиртных напитков.

**Заключение.** 1) Количественные показатели ДВИ МРТ позволяют установить клиническую форму АБП: ИКД для стеатоза составляет 2,67 [2,62; 2,90] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для стеатогепатита – 2,15 [2,10; 2,20] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для гепатита – 1,75 [1,73; 1,80] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для цирроза – 1,18 [1,15; 1,31] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с (AUROC 0,985, (95% ДИ 0,945–0,912)). 2) Качественные показатели ДВИ МРТ печени (есть/нет ограничение диффузии) позволяют прогнозировать продолжающийся прием спиртных напитков у пациентов с АБП при всех клинических формах (AUROC 0,997, (95% ДИ 0,973–0,998)). 3) У пациентов с АБП отмечена высокая корреляционная связь при уменьшении показателей ИКД печени и отрицательной клинико-лабораторной динамикой (r=0,884); высокая корреляционная связь при увеличении показателей ИКД и положительной клинико-лабораторной динамикой (r=0,885).

*Ключевые слова:* диффузионно-взвешенное изображение, магнитно-резонансная томография, алкогольная болезнь печени

# MAGNETIC RESONANCE IMAGING AS A DIAGNOSTIC STEP IN THE ASSESSMENT OF THE ALCOHOLIC NATURE OF DIFFUSE LIVER DISEASES

Lozbenev F.S.[1], Morozova T.G.[2]

*[1]Smolensk Central District Hospital, 6, St. Hospital, 214050, Stabna, Smolensk region, Russia*
*[2]Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To evaluate the possibilities of magnetic resonance imaging in assessing the alcoholic nature of diffuse liver diseases.

**Methods.** From 2019 to 2023 patients with ALD who were treated in the gastroenterological department of the OGBUZ "Clinical Hospital No. 1" were examined. The preliminary clinical diagnosis was established according to the anamnesis, CAGE test, clinical and laboratory parameters, among the

patients there were 76 men and 52 women. Comparison group included 57 patients with other pathology of the gastrointestinal tract and absolutely healthy – 10 patients.

**Results.** Upon admission and monitoring of patients, a high correlation between DWI quantitative indicators and elastography and an average correlation with biopsy data was established. The diagnostic and prognostic significance of the developed DWI criteria for liver MRI in patients with ALD at admission for quantitative assessment was carried out. When comparing the results of a qualitative assessment of DWI of the liver during MRI with the data of the CAGE test, the results of a survey of patients and relatives about the use of alcoholic beverages, a high correlation was established between the restriction of diffusion in the liver during MRI and continued intake of alcoholic beverages.

**Conclusion.** 1. Quantitative indicators of DWI MRI allow to establish the clinical form of ALD: ACD for steatosis is 2.67 [2.62; 2.90] $\times 10^{-3}$mm$^2$/s, for steatohepatitis – 2.15 [2.10; 2.20] $\times 10^{-3}$mm$^2$/s, for hepatitis – 1.75 [1.73; 1.80] $\times 10^{-3}$mm$^2$/s, for cirrhosis – 1.18 [1.15; 1.31] $\times 10^{-3}$mm$^2$/s (AUROC 0.985, (95% CI 0.945–0.912)). 2. Qualitative parameters of DWI liver MRI (with/without diffusion restriction) predict continued alcohol intake in patients with ALD in all clinical forms (AUROC 0.997, (95% CI 0.973–0.998)). 3. In patients with ALD, a high correlation was noted with a decrease in liver ACD and negative clinical and laboratory dynamics (r=0.884); high correlation with an increase in ACD and positive clinical and laboratory dynamics (r=0.885).

*Keywords:* diffusion-weighted images, magnetic resonance imaging, alcoholic liver disease

## Введение

На современном этапе диагностики диффузных заболеваний печени идет разработка новых комплексных алгоритмов, делая актуальной проблему выбора неинвазивных методов исследования [5]. Дорогостоящее оборудование или высокая стоимость исследования в частной медицине на коммерческих условиях ведет к большому различию алгоритмов обследования пациентов в зависимости от медицинской организации [5]. Подобные алгоритмы постоянно изменяются и пересматриваются в зависимости от доступности тех или иных диагностических систем и совершенствования аппаратуры [5]. Сравнительная оценка показателей информативности инструментальных методов диагностики алкогольной болезни печени (АБП), таких как ультразвуковое исследование (УЗИ), компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) представлена в табл. 3 [3].

Таблица 3. Сравнительная оценка уровней чувствительности и специфичности инструментальных методов диагностики АБП при всех клинических формах

| Методы | Стеатоз | | Стеатогепатит | | Гепатит | | Цирроз | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Чувстви-тельность | Специфич-ность | Чувствитель-ность | Специфично-сть | Чувствитель-ность | Специфич-ность | Чувствитель-ность | Специфич-ность |
| УЗИ | 20% | 30% | 25% | 32% | 85% | 35% | 87% | 40% |
| Транзиентная эластография | 32% | 58% | 45% | 61% | 86% | 93% | 89% | 95% |
| Эластография со сдвиговой волной | 71% | 62% | 72% | 51% | 94% | 93% | 95% | 90% |
| КТ | 90% | 86% | 45% | 64% | 43% | 65% | 95% | 92% |
| МРТ | 83% | 99% | 81% | 96% | 80% | 97% | 81% | 99% |
| МР-эластография | 84,8% | 88,9% | 85,7% | 89,8% | 89,4% | 90,3% | 85,8% | 88,9% |

Таким образом, МРТ является одним из наиболее информативных и актуальных неинвазивных методов лучевой диагностики АБП при всех клинических формах. МРТ на равных с УЗ-методиками и КТ с контрастным усилением позволяет судить о наличии патологии паренхиматозных органов, в частности печени, следовательно, включен в стандартные алгоритмы обследования пациентов с патологией печени. Основными возможностями МРТ являются: отсутствие ионизирующего излучения, произвольное направление срезов или сбор истинного трехмерного массива данных, и, что наиболее важно для всех нозологий, получение морфологической, метаболической и функциональной информации.

В статье мы делаем акцент на возможности применения диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) печени пациентам с диффузной патологией печени алкогольного генеза, поскольку данное

направление до настоящего времени не разрабатывалось. В монографии Э.Й. Руммени и соавт. (2017) отмечается, что надежность, клиническая ценность многих импульсных последовательностей, а также ДВИ еще изучается, однако уже сейчас представляются полезными для выявления злокачественных опухолей печени и послеоперационного наблюдения пациентов с таким диагнозом [6]. Авторы A. Shenoy-Bhangle, V. Baliyan, H. Kordbacheh et al. (2017) утверждают, что ДВИ – эффективная методика для выявления очаговых поражений печени и является желательным инструментом обследования пациентов, которые не могут получать внутривенный контраст [10]. У пациентов, получающих системную и местную терапию злокачественных новообразований печени, ДВИ действует как клинический инструмент для мониторинга ответа на лечение и прогноза дальнейшего течения заболевания [2, 8, 9, 11]. Однако ученые отмечают, что полезность при оценке диффузных заболеваний паренхимы печени все еще находится на исследовательском уровне и необходимы дальнейшие исследования и анализ для повышения надежности метода, поэтому ДВИ имеет определенные ограничения и остается дополнением, а не заменой обычным последовательностям [10].

Цель исследования – оценить возможности магнитно-резонансной томографии в оценке алкогольной природы диффузных заболеваний печени.

## Методика

На базе ОГБУЗ «Клиническая больница №1» с октября 2019 по март 2023 гг. проведено обследование пациентов с алкогольной болезнью печени, находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении ОГБУЗ «Клиническая больница №1» (октябрь 2019 г. – апрель 2020 г.), в последующем (май 2020 г. – март 2023 г.) – амбулаторное наблюдение. Все пациенты были обследованы согласно приказу Министерства Здравоохранения РФ от 12 ноября 2012 г. № 906н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи населению по профилю «гастроэнтерология», лабораторно-инструментальные и лучевые методы диагностики проводились согласно приказам: приказ Министерства здравоохранения РФ от 9 июня 2020 г. № 560н «Об утверждении Правил проведения рентгенологических исследований», приказ МЗ РФ № 360 от 14.09.2001 г. «Об утверждении перечня лучевых методов исследования» и приказ Минздрава РФ от 21 февраля 2000 г. №64 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований». Предварительный клинический диагноз устанавливался по данным анамнеза пациента, теста CAGE, клинико-лабораторным показателям, среди пациентов было 76 (59%) мужчин и 52 (41%) женщин. Группа сравнения была представлена 57 пациентами с другой патологией желудочно-кишечного тракта и абсолютно здоровые – 10 пациентов.

В соответствии с клиническими рекомендациями «Алкогольная болезнь печени» пересмотр 2019 г. для установки вредного употребления алкоголя собирался анамнез предпочтения спиртосодержащих напитков: стандартная порция (единица) алкоголя равна 10 г. чистого спирта (25 г. 40% напитка – водки, 100 г. 9-11% сухого вина или 200 г. 3-5% пива) [3]. Потребляемое количество алкоголя пациентами, а также группы с эпизодическим употреблением алкоголя в больших количествах >60 г. чистого спирта, употребляемого за сутки представлено в табл. 2.

Таблица 2. Распределение пациентов с алкогольной болезнью печени в зависимости от модели употребления алкоголя (n=128)

| Клиническая форма | Систематическое употребление алкоголя | | Эпизодическое употребление алкоголя | |
|---|---|---|---|---|
| | Мужчины абс., % | Женщины абс., % | Мужчины абс., % | Женщины абс., % |
| Стеатоз (n=24) | 6 (25) | 7 (29) | 9 (38) | 2 (8) |
| Стеатогепатит (n=29) | 9 (31) | 8 (27) | 7 (25) | 5 (17) |
| Гепатит (n=51) | 13 (25) | 11 (22) | 15 (29) | 12 (24) |
| Цирроз (n=24) | 11 (46) | 3 (12) | 6 (25) | 4 (17) |
| Всего (n=128) | 43 (33) | 32 (25) | 33 (26) | 20 (16) |

Всем пациентам проводилось комплексное лучевое обследование, включающее в себя УЗИ ОБП (n=128) с клинической эластографией (КЭ) печении (n=128) на аппарате Digital Color Doppler Ultrasound Imaging System (Apogree 3500, Китай), мультисрезовую спиральную компьютерную томографию (МСКТ) печени (n=34), по стандартному протоколу проводилось на аппарате «Aquilion 16» (Toshiba). МРТ с ДВИ печени (n=128) МРТ печени с режимом ДВИ (Vantage Titan 1,5 Тл (Toshiba)) – по протоколу МР-исследования

для брюшной полости, обязательным прицельным включением режима ДВИ для печени. По итогам комплексного лучевого алгоритма обследования 89 (69%) пациентам проведена биопсия печени, повторное проведение инвазивного вмешательства потребовалось 21 (16,4%) больным.

ДВИ – является стандартным режимом при МР-исследовании брюшной полости, программное оснащение нашего оборудования позволили оценить возможности всех b-факторов 50/300/800; 100/600/1000, для клинических форм АБП, с последующим расчетом информативного измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) в простпроцессинговой программе (рис. 1).

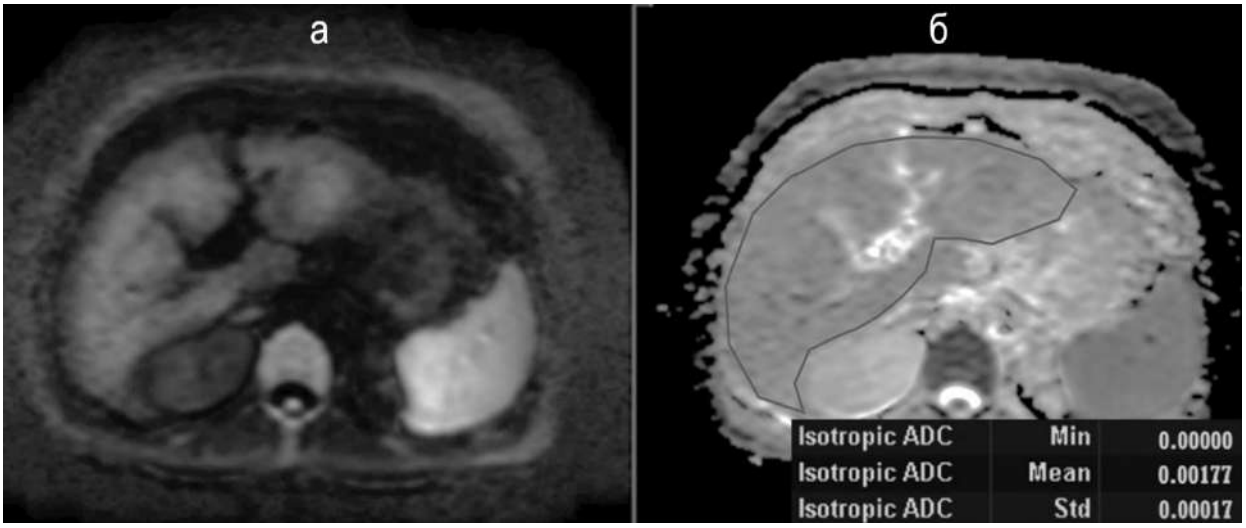



Рис. 1. Постпроцессинговая обработка МР-исследования при использовании диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) печени полученных изображений (b-фактор 1000): а – ДВИ печени, качественная оценка; б – количественная оценка, получение ИКД

В стандартный МР-протокол исследования входили такие последовательности как Т2 ВИ, Т2 FS, Т1 (gradient echo out-of-phase) ВИ, ДВИ (табл. 2).

Таблица 2. Перечень импульсных последовательностей, применяемых в исследовании

| Импульсная последовательность | Плоскость | TR, мс | TE, мс | ST, мм | N | FOV | MTX | Длительность, мин:с |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| T2 Heavy (FASE) | Корональная | 15000 | 150 | 6 | 45 | 43×38 | 256×256 | 0:30 |
| T2 Heavy (FASE) | аксиальная | 15000 | 60 | 6 | 34 | 34×41 | 192×256 | 0:45 |
| T2 (BH) | аксиальная | 2200 | 90 | 6 | 45 | 34×41 | 192×320 | 0:55 |
| ДВИ b 50/300/800 | аксиальная | 10560 | 100 | 6 | 27 | 40×41 | 128×112 | 6:21 |
| ДВИ b 100/600/1000 | аксиальная | 10560 | 100 | 6 | 45 | 40×41 | 128×112 | 6:21 |
| T2 FS(BH) | аксиальная | 2400 | 102 | 6, | 45 | 34×41 | 192×304 | 1:00 |
| T1 in/out | аксиальная | 130 | 2,4/4,8 | 6 | 27 | 36×41 | 192×256 | 0:52 |
| T1 dyn VisPrep* | аксиальная | 4,8 | 1,9 | 6 | 30 | 34×41 | 180×304 | 4:58 |

Примечание: ИП – импульсная последовательность, TR – время повтора, TE – время эха, ST – толщина среза, N – количество срезов, FOV- поле обзора, MTX – матрица * При выполнении исследования с КУ

Сроки динамического наблюдения за пациентами совпадали со сроками диспансерного наблюдения за пациентами с АБП в соответствии с Приложение №1 к «Порядку проведения диспансерного наблюдения за взрослыми», утвержденному приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 марта 2022 г. №168н (рис. 2).

Повторное проведение биопсии печени было связано с отрицательной клинико-лабораторной и инструментальной динамикой, диагностически не ясной картиной ДВИ печени при МРТ.

Для статистического анализа использовались статистические пакеты: SPSS, версия 20 и STATISTICA, версия 6.0. Статистический анализ данных проводился методами описательной статистики и сравнения выборок (с использованием непараметрические критериев)

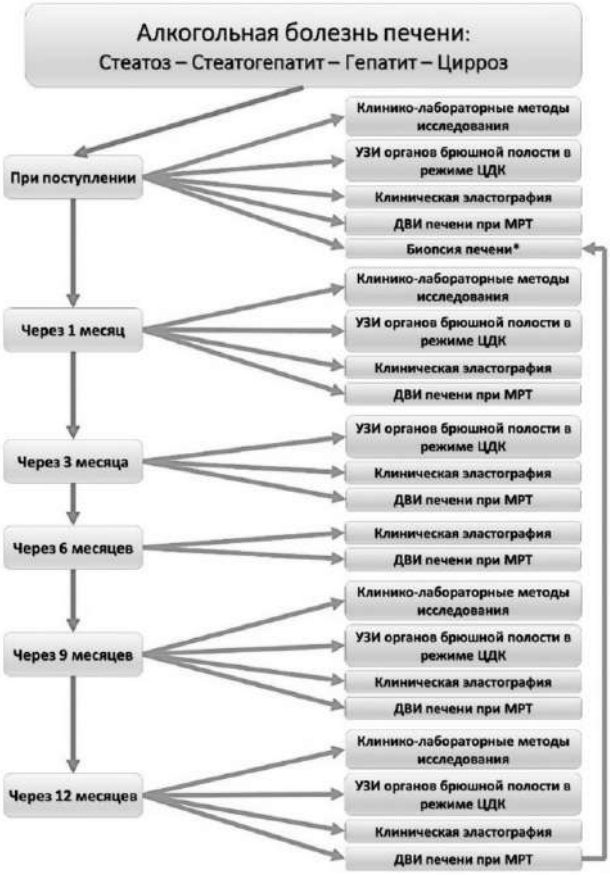



Рис. 2. Дизайн обследования пациентов с АБП с включением в алгоритм обследования диффузионно-взвешенных изображений при МРТ печени (n=128), * – при необходимости повторить биопсию через 12 месяцев

## Результаты исследования и их обсуждение

Первый этап оценки показателей ДВИ печени предусматривал определение клинической формы АБП. Был проведен анализ данных ДВИ печени при МРТ количественных показателей при поступлении для каждой клинической формы АБП с получением медиан, квартилей [Q1; Q2], минимума и максимума (табл. 3).

Таблица 3. Результаты ИКД печени ($10^{-3}$ мм$^2$/с) при МРТ у пациентов с АБП при поступлении (n=128), контрольной группе I (n=57) контрольной группе II (абсолютно здоровые) (n=10)

| Клиническая форма АБП | Количество пациентов, n (%) | Показатели ИКД печени | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Me [Q1; Q2] | Min | Max |
| Стеатоз | 24 (18,7) | 2,67 */** [2,62; 2,90] | 2,56 | 3,00 |
| Стеатогепатит | 29 (22,7%) | 2,15*/** [2,10; 2,20] | 2,08 | 2,96 |
| Гепатит | 51 (39,9) | 1,75*/** [1,73; 1,80] | 1,68 | 2,78 |
| Цирроз | 24 (18,7) | 1,18*/** [1,15; 1,31] | 1,01 | 2,80 |
| Группа контроля I | 57 (100%) | 3,71 [3,61; 3,80] | 3,51 | 4,10 |
| Группа контроля II (абсолютно здоровые) | 10 (100%) | 3,73 [3,69; 3,83] | 3,50 | 4,11 |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой $p<0,05$; ** – статистически значимые внутригрупповые различия $p<0,05$

Исходя из данных таблицы 3, значения ИКД при диффузных поражениях печени статистически меньше, чем в контрольной группе, а при внутригрупповом анализе было выявлено, что показатели

ИКД печени позволяли прогнозировать клиническую форму АБП. Также, анализируя результаты диффузии был сделан вывод о значимом снижении показателя с более выраженным поражением печеночной ткани. При поступлении и мониторинге за пациентами (через 1, 3, 6, 9, 12 месяцев) была установлена высокая корреляционная связь в оценке сопоставления количественных показателей ДВИ с клинической эластографией (r=0,873) и средняя корреляционная связь с данными биопсии печени (r=0,715). Была проведена оценка диагностический и прогностической значимости разработанных критериев ДВИ при МРТ печени у пациентов с АБП при поступлении для количественной оценки AUROC=0,908 (95% ДИ 0,875-0,911).

Результаты ИКД были сопоставлены с данными биохимического анализа крови. У 101 (78,9%) исследуемого отмечались изменения в биохимическом анализе крови. При динамическом наблюдении сохранение изменения отмечено: через 1-3 месяца у 94 (73,4%), через 3-6 месяце – у 72 (56,3%), через 9-12 месяцев – у 54 (42,1%), что отражалось в снижении или стабилизации показателей ИКД на протяжение всего периода наблюдения (r=0,817), по данным ДВИ печени при МРТ – ограничение диффузии (r=0,889).

При поступлении изменения со стороны биохимического анализа крови коррелировали с ограничением диффузии более чем в 50% случаев (n=101) (r=0,884), однако у 18 (15%) исследуемых ограничение диффузии не сопровождалось изменениями в биохимическом анализе крови. При динамическом наблюдении за пациентами при отсутствии нормализации результатов биохимического анализа крови, сохранении ограничения диффузии в режиме ДВИ печени, проводилась коррекция патогенетической терапии, пациент приглашался через 1, 3 месяца на повторное исследование: у 88 (68,7%) из 128 процесс сохранялся без динамики; через 6-9 месяцев – у 67 (52,3%) – без динамики, через 9-12 месяцев – у 55 (42,9%). При дополнительном опросе пациентов, родственников в данной группе установлено нарушение режима абстиненции. При сопоставлении результатов качественной оценки ДВИ печени при МРТ с данными теста CAGE, результатов опроса пациентов и родственников об употреблении спиртных напитков, установлена высокая корреляционная связь ограничения диффузии в печени при МРТ и продолжающимся приемом спиртных напитков (r=0,901).

Ниже представлен клинический пример: пациент, 53 лет, в анамнезе употребление спиртных напитков на протяжении 7 лет, отмечается ограничение диффузии в паренхиме печени, количественные показатели соответствуют гепатиту. После лечебных мероприятий через 1 месяц отмечено, что сохраняется ограничение диффузии в ткани печени, пациент указал, на продолжающееся употребление алкоголем, ИКД снизился, что свидетельствовало об отрицательной динамике (рис. 3).

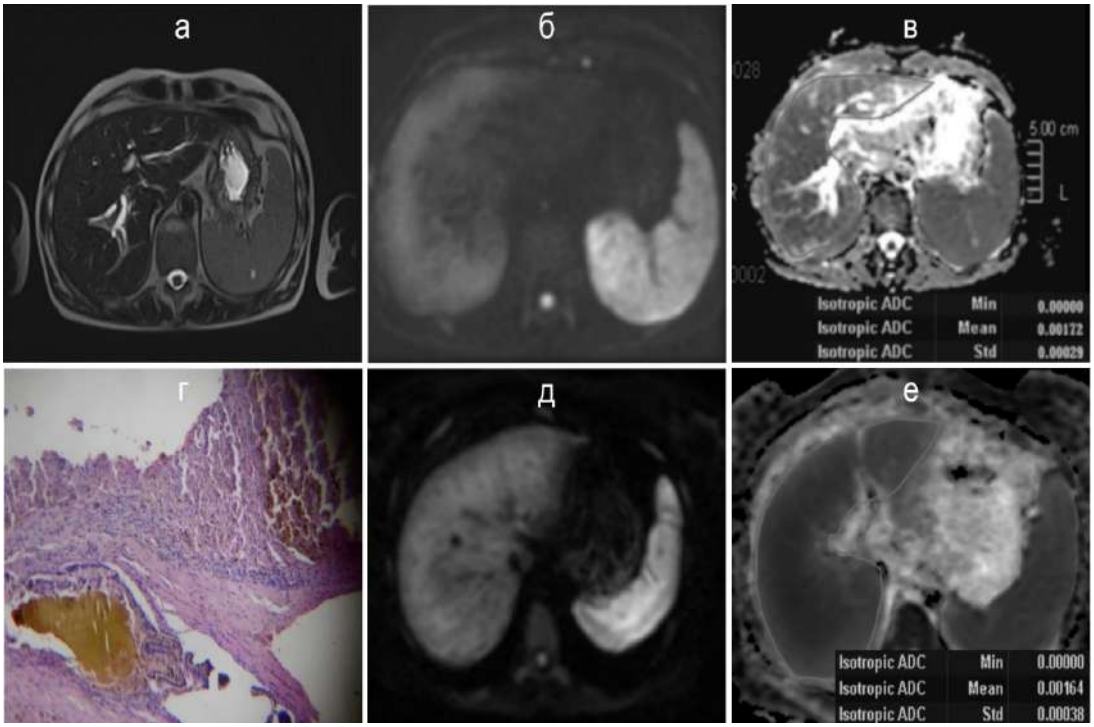



Рис. 3. Пациент, 53 года. Диффузное заболевание печени алкогольной этиологии (гепатит): а – МРТ ОБП, Т2-ВИ (аксиальный срез); б, д – ДВИ печени; в, е – ИКД печени; г – гистологический материал печени (окраска гематоксилином и эозином, ×200): фиброзные волокна, признаки холестаза

По данным результатов качественной и количественной оценок ДВИ рекомендованы следующие критерии динамического наблюдения за пациентами: проведение качественной оценки ДВИ МРТ печени пациентам с АБП при поступлении, в случае при ограничения диффузии – через 1 месяц; проведение количественной оценки – при поступлении, в случае отсутствия ограничения диффузии, в течение первого года наблюдения через 9 месяцев – при стеатозе и циррозе, через 6 месяцев – при стеатогепатите, через 3, 6, 9, 12 мес. – при гепатите.

Была проведена оценка диагностической и прогностической значимости разработанных критериев ДВИ печени при МРТ у пациентов с АБП при поступлении для качественной оценки AUROC=0,844 (95% ДИ 0,801-0,869). С учетом полученных в ходе работы результатов нами был разработан алгоритм ведения пациентов с АБП (рис. 4).

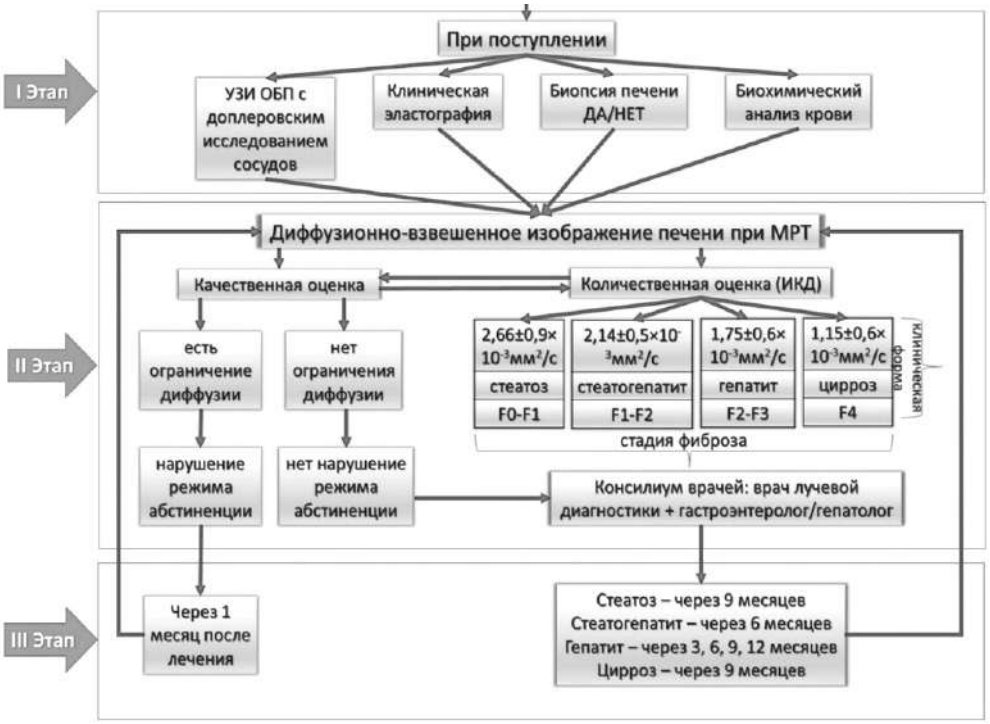



Рис. 4. Алгоритм ведения пациентов с алкогольной болезнью печени при использовании диффузионно-взвешенных изображений печени при МРТ

В соответствии с ним при поступлении пациента с АБП проводится на I этапе УЗИ с доплеровским исследованием сосудов, с целью оценки портальной гемодинамики, наличия признаков портальной гипертензии, эластографические методики, биохимический анализ крови, для оценки стадии поражения. Наше исследование показало, что отмечена низкая корреляционная связь результатов биохимического анализа крови и эластографии, что может привести к ложноположительным результатам в оценке фиброзного процесса, в связи с тем, что показатели эластографии могут быть высокими на фоне воспалительных изменений в ткани печени. Независимо от полученных результатов пациенты нуждаются на II этапе мониторинга в проведении качественной оценки ДВИ печени и если отмечается ограничение диффузии в паренхиме, то подтверждают употребление спиртными напитками (при исключении предварительно другой этиологии) и прогнозируют изменения в биохимическом анализе крови в виде синдромов цитолиза и холестаза. Всем пациентам с ограничением диффузии требуется динамический мониторинг через 1 месяц, после лечения (этиологическое – исключить прием этанола, патогенетическое, симптоматическое), таким образом, имеется возможность своевременной коррекции лечения. Всем пациентам проводят количественную оценку – ИКД печени для постановки клинической формы и прогнозировании имеющейся стадии фиброзного процесса. В динамическом наблюдении за пациентами на протяжении трех лет была выявлена высокая корреляционная связь ИКД и эластографических показателей (r=0,873). Консилиум врачей: врач лучевой диагностики, гастроэнтеролог или гепатолог определяют сроки мониторинга для пациента с АБП, только в том случае, если зафиксировано отсутствие ограничение диффузии. Разработанный алгоритм предусматривает исключение биопсии печени на всех этапах

мониторинга за пациентами (исключение составляют пациенты с подозрением на ГЦК, в случае сомнительных данных при проведении других методов исследования).

Для практического здравоохранения, разработанный алгоритм играет важное значение, так как позволяет предотвратить развитие заболевания, что особенно актуально для больных на доклинической стадии, свести к минимум развитие осложнений, таким образом, выполняя первостепенную задачу – профилактическая направленность (актуально для пациентов, скрывающих употребление спиртных напитков, самостоятельно прерывающие лечение).

В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская, Ч.С. Павлов и др. (2017) в своей работе указывают, что МРТ, КТ и УЗИ являются наиболее подходящими методами в диагностическом алгоритме ведения пациентов с АБП, также говорится о наибольшей надежности МРТ и магнитно-резонансной спектроскопии в диагностике преобладания стеатоза печени. Вместе с тем авторы отмечают, что применение данных методов исследования еще в разработке, они нуждаются в дальнейшем изучении [1]. В их работе нет никаких сведений о применении ДВИ печени при МРТ для диагностики всех клинических форм АБП, таких как стеатоз, стеатогепатит, гепатит и цирроз печени.

Е.А. Кулебина, А.Н. Сурков, О.В. Усольцева (2020) в своей работе, посвященной неинвазивным методам исследования фиброза печени, говорят о том, что методика ДВИ при МРТ чаще используется для диагностики поражений печени онкологического профиля. Также указывается, что диффузионно-взвешенная МРТ имеет ряд ограничений в визуализации фиброза печени в связи с влиянием стеатоза печени и в зависимости от качества получаемых изображений, обусловленного возможным движением пациентов при выполнении исследования [4]. Авторы подчеркивают, что учеными ведутся попытки оценки зависимости ИКД от степени выраженности фиброзного процесса.

В работе А. А. Усановой и соавт. (2019) уделяется внимание лабораторным методам диагностики фиброзного процесса и клинических форм АПБ, использованию данных биопсии печени, эластографии и УЗИ печени [7]. Указывается, что МРТ является наиболее чувствительным методом для определения фиброза печени, но авторами не приводятся клинические примеры, не описывается спецификация методик и применение ДВИ печени в диагностике клинических форм заболевания и степени выраженности фиброзного процесса в тканях печени, что подробно обсуждается в нашей работе.

## Выводы

1. Количественные показатели ДВИ МРТ позволяют установить клиническую форму АБП: ИКД для стеатоза составляет 2,67 [2,62; 2,90] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для стеатогепатита – 2,15 [2,10; 2,20] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для гепатита – 1,75 [1,73; 1,80] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с, для цирроза – 1,18 [1,15; 1,31] $\times 10^{-3}$мм$^2$/с (AUROC 0,985, (95% ДИ 0,945–0,912)).
2. Качественные показатели ДВИ МРТ печени (есть/нет ограничение диффузии) позволяют прогнозировать продолжающийся прием спиртных напитков у пациентов с АБП при всех клинических формах (AUROC 0,997, (95% ДИ 0,973-0,998)).
3. У пациентов с АБП отмечена высокая корреляционная связь при уменьшении показателей ИКД печени и отрицательной клинико-лабораторной динамикой (r=0,884); высокая корреляционная связь при увеличении показателей ИКД и положительной клинико-лабораторной динамикой (r=0,885).

## Литература (References)

1. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С. и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – №27(6). – С. 20-40. [Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Pavlov CH.S. i dr. *Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology. – 2017. – N27(6). – P. 20-40. (in Russian)]
2. Карельская Н.А., Кармазановский Г.Г. Диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография всего тела // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – №8 (57). – С. 57-60. [Karel'skaya N.A., Karmazanovskij G.G. *Hirurgiya. ZHurnal im. N.I. Pirogova.* Surgery. Journal them. N.I. Pirogov. – 2010. – N8 (57). – P. 57-60. (in Russian)]
3. Клинические рекомендации: Алкогольная болезнь печени / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Россия, 2019. – 38 с. [ *Klinicheskie rekomendacii: Alkogol'naya bolezn' pecheni // Ministerstvo*

*zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii*. Clinical guidelines: Alcoholic liver disease / Ministry of Health of the Russian Federation. – Russia, 2019. – 38 p. (in Russian)]

4. Кулебина Е.А., Сурков А.Н., Усольцева О.В. Неинвазивная диагностика фиброза печени: возможности инструментальных методик на современном этапе // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2020. – Т.4, №5. – С. 297-301. [Kulebina E.A., Surkov A.N., Usol'ceva O.V. *Russkij medicinskij zhurnal. Medicinskoe obozrenie*. Russian medical journal. Medical review. – 2020. – V.4, N5. – P. 297-301. (in Russian)].
5. Маев И.В., Андреев Д.Н., Кучерявый Ю.А. Клиническая гепатология: алгоритмы диагностики и лечения. – М.: Прима Принт, 2019. – 80 с. [Maev I.V., Andreev D.N., Kucheryavyj YU.A. *Klinicheskaya gepatologiya: algoritmy diagnostiki i lecheniya*. Clinical hepatology: diagnostic and treatment algorithms. – Moscow: Prima Print, 2019. – 80 p. (in Russian)]
6. Руммени Э.И., Раймер П, Хайндель В. Магнитно-резонансная томография тела (пер. с англ.) / Под ред. Г.Г. Кармазановского. – М.: МЕДпресс-информ, 2014. – 848 с. [Rummeni E.I., Rajmer P, Hajndel' V. *Magnitno-rezonansnaya tomografiya tela (per. s angl.) / Pod red. G.G. Karmazanovskogo*. Magnetic resonance imaging of the body. – Moscow: MEDpress-inform, 2014. – 848 p. (in Russian)]
7. Усанова А.А., Новикова Э.К., Кузма Ф.М. и др. Современные неинвазивные методы диагностики алкогольной болезни печени // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 4. – С. 147. [Usanova A.A., Novikova E.K., Kuzma F.M. i dr. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* Modern problems of science and education. – 2020. – N4. – P. 147. (in Russian)]
8. Manelli L., Kim S., Hajdu C.H. et al. Serial diffusion weighted MRI in patients with hepatocellular carcinoma: prediction and assessment of response to transarterial chemoembolization-preliminary experience // European Journal of Radiology. – 2013. – N82 (4). – P. 577-582.
9. Sandrasegaran K., Tahir B., Patel B. The usefulness of diffusion-weighted imaging in the characterization of liver lesions in patients with cirrhosis // Clinical Radiology. – 2013. – N68. – P. 708-715.
10. Shenoy-Bhangle A., Baliyan V., Kordbacheh H. et al. Diffusion weighted magnetic resonance imaging of liver: Principles, clinical applications and recent updates // World Journal of Hepatology. – 2017. – V9. – P. 1081-1091.
11. Tauoli B., Koh D.M. Diffusion-weighted MR imaging of the liver // Radiology. – 2010. – N254. – P. 169-184.

**Информация об авторах**

*Лозбенев Федор Сергеевич* – заведующий рентгеновским кабинетом – врача рентгенолога поликлиники, ОГБУЗ «Смоленская центральная районная больница». E-mail: lozfes@gmail.com

*Морозова Татьяна Геннадьевна* – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии с курсом ДПО ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: t.g.morozova@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.09.2023

Принята к печати 15.12.2023

ОБЗОРЫ

*УДК 616.21:616.329-002:616-056.52* 3.1.21 Педиатрия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.22 EDN: UOOVBA*

# ЛАРИНГОФАРИНГЕАЛЬНЫЙ РЕФЛЮКС У ДЕТЕЙ, ВЗРОСЛЫХ И ПАЛЛИАТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДИАГНОСТИКИ

**© Разуваева Ю.Ю., Леднева В.С., Леонова В.В., Леонов С.А., Ульянова Л.В., Разуваев О.А.**

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Россия, 394036, Воронеж, улица Студенческая, 10*

*Резюме*

**Цель.** Изучить проблему ларингофарингеального рефлюкса у детей, взрослых и паллиативных пациентов, включая эпидемиологию, этиопатогенез, клиническую картину, дифференциальную диагностику гастроэзофагеального и ларингофарингеального рефлюкса, возможности диагностики, медикаментозного и немедикаментозного лечения, а также последствия.

**Методика.** Обзор современной отечественной и зарубежной литературы по актуальным методам диагностики и лечения ларингофарингеального рефлюкса у взрослых, детей и паллиативных пацентов, в частности клинических рекомендаций, оригинальных статей в том числе баз данных Elibrary.ru, Pubmed, Cyberleninka.ru.

**Результаты.** В настоящее время ларингофарингеальный рефлюкс (ЛФР) является глобальной проблемой, при этом максимальная выявляемость приходится на долю развивающихся и развитых стран. ЛФР – независимый фактор риска заболеваний слизистой дыхательного тракта, представляющий собой динамический процесс разрушения и изменения барьеров слизистой, в основе которого лежат сложные механизмы взаимодействия рефлюксанта и слизистой оболочки. Типичные симптомы ЛФР включают осиплость голоса, легкую дисфагию, длительный кашель, боль при глотании и ощущением инородного тела в гортани. Несмотря на сходство между ЛФР и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ), это две разные формы заболевания. Шкала Хорвата – новый перспективный метод диагностики, оценки степени тяжести и вида ЛФР для определения динамики терапии. Лечение ЛФР включает в себя модификацию образа жизни, а также длительное применение ингибиторов протонной помпы (ИПП).

**Заключение.** Ларингофарингеальный рефлюкс является самостоятельным заболеванием и может комбинироваться с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, но в этом случае это подтверждается данными суточной PH-метрии. Шкала Хорвата – новый перспективный метод диагностики, оценки степени тяжести и вида ЛФР для определения терапевтической тактики.

*Ключевые слова:* ларингофарингеальный рефлюкс, дети, взрослые, диагностика, гастроэзофагеальный рефлюкс, паллиативные пациенты

# LARYNGOPHARYNGEAL REFLUX IN CHILDREN, ADULTS AND PALLIATIVE PATIENTS: PROBLEMS AND PROSPECTS OF DIAGNOSTICS

Razuvaeva Yu.Yu., Ledneva V.S., Leonova V.V., Leonov S.A., Ulianova L.V., Razuvaev O.A.

*Voronezh State Medical University, 10, Studentskaya St., 394036, Voronezh, Russia*

*Abstract*

**Objective**. To study the problem of laryngopharyngeal reflux in children, adults and palliative patients, including epidemiology, etiopathogenesis, clinical picture, differential diagnosis of gastroesophageal and laryngopharyngeal reflux, diagnostic possibilities, drug and non-drug treatment, as well as consequences.

**Methods.** Review of modern domestic and foreign literature on current methods of diagnosis and treatment of laryngopharyngeal reflux in adults, children and palliative patients, in particular clinical recommendations, original articles, including databases Elibrary.ru, Pubmed, Cyberleninka.ru.

**Results.** Currently, laryngopharyngeal reflux (LPR) is a global problem, with maximum detectability occurring in developing and developed countries. LPR is an independent risk factor for diseases of the respiratory tract mucosa, which is a dynamic process of destruction and change of mucosal barriers, which is based on complex mechanisms of interaction between the reflux agent and the mucous membrane. Typical symptoms of LPR include hoarseness of voice, mild dysphagia, prolonged cough, pain when swallowing and a feeling of a foreign body in the larynx. Despite the similarities between LPR and gastroesophageal reflux disease (GERD), these are two different forms of the disease. The Horvath scale is a new promising method of diagnosis, assessment of the severity and type of LPR to determine the dynamics of therapy. Treatment of LFR includes lifestyle modification, as well as long-term use of proton pump inhibitors (PPIs).

**Conclusion.** Laryngopharyngeal reflux is an independent disease and can be combined with gastroesophageal reflux disease, but in this case it is confirmed by the data of daily PH-metry. The Horvath scale is a new promising method of diagnosis, assessment of the severity and type of LPR to determine therapeutic tactics.

*Keywords:* laryngopharyngeal reflux, children, adults, diagnostics, gastroesophageal reflux, palliative patients

## Введение

Ларингофарингеальный рефлюкс (ЛФР) – это ретроградный заброс содержимого желудка (соляной кислоты, пищеварительных ферментов и иногда желчи) в пищевод, а затем в гортань, что приводит к появлению симптомов [25]. Типичные симптомы ЛФР включают осиплость голоса, легкую дисфагию, длительный кашель, боль при глотании и ощущением инородного тела в гортани [3, 25]. В некоторых случаях содержимое желудка может даже попасть в полость носа или в полость уха через евстахиевы трубы, что может усугубить ринит, синусит или средний отит [7]. Большинство пациентов не знают о наличии ЛФР, и только 35% жалуются на изжогу. Не существует однозначных критериев, которые надежно демонстрируют причинно-следственную связь между кислотным рефлюксом и симптомами в гортани, а результаты pH-метрии пищевода и ответ на терапию ингибиторами протонной помпы (ИПП) в контролируемых исследованиях варьируются. Отоларингологи и гастроэнтерологи различаются в своих определениях и лечении ЛФР [8]. Отоларингологи рассматривают ЛФР как относительно новое клиническое явление, в то время как гастроэнтерологи рассматривают ЛФР как редкое внепищеводное проявление гастроэзофагеальной рефлюксной болезни [11]. Гастроэнтерологи задались вопросом, способствует ли рефлюкс симптомам, связанным с ЛФР, у пациентов без проявлений, связанных с ГЭРБ [13]. Отоларингологи отметили, что ЛФР является многофакторным синдромом, который также включает газообразный и/или некислотный рефлюксат [6, 36]. В настоящий момент концепция сводится к долгим эмпирическим испытаниям, после которых у большинства пациентов отсутствует реакция на лечение. При этом подходы к диагностике и терапии при ГЭРБ и ЛФР не имеет дифференциации [1, 25]. Несмотря на сходство между ЛФР и ГЭРБ, это две разные формы заболевания. Ретроградный заброс гастродуоденального содержимого в пищевод может привести к симптомам, связанным с рефлюксом, таким как изжога, отрыжка и одинофагия. Рефлюксные заболевания могут быть классифицированы как ЛФР, рефлюкс с эзофагитом и рефлюкс без эзофагита. Случаи рефлюкса с эзофагитом и рефлюкса без эзофагита классифицируются как ГЭРБ [1, 14]. При ГЭРБ заброс желудочного содержимого ограничен пищеводом, а при ЛФР рефлюкс желудочного содержимого поражает гортань и глотку. Несмотря на схожий патогенез ГЭРБ и ЛФР, в клинических проявлениях существуют различия: ГЭРБ сопровождается повышенной кислотностью и изжогой, что редко встречается у пациентов с ЛФР [25]. При ГЭРБ заброс желудочного содержимого и повышение кислотности обычно возникают в ночное время, когда как при ЛФР симптомы обычно возникает в течение дня. Симптомы ЛФР возникают у пациентов в вертикальном положении при физической нагрузке (например, при наклонах вперед и вниз и упражнениях на пресс), тогда как проявления ГЭРБ возникают, когда пациенты лежат [20]. Таким образом, ларингофарингеальный рефлюкс является самостоятельным заболеванием и может комбинироваться с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, но в этом случае это подтверждается данными суточной PH-метрии.

Цель исследования – изучить проблему ларингофарингеального рефлюкса у детей, взрослых и паллиативных пациентов, включая эпидемиологию, этиопатогенез, клиническую картину, дифференциальную диагностику гастроэзофагеального и ларингофарингеального рефлюкса, возможности диагностики, медикаментозного и немедикаментозного лечения, а также последствия.

**Эпидемиология**

В настоящее время ларингофарингеальный рефлюкс (ЛФР) является глобальной проблемой, при этом максимальная выявляемость приходится на долю развивающихся и развитых стран. ЛФР также высоко распространен при отоларингологических заболеваниях, являясь сопутствующим состоянием и осложняющий течение основного заболевания [38]. Исследование на 105 здоровых взрослых показало, что при проведении ларингоскопии у 86% наблюдались изменения, связанные с рефлюксом [31]. В другом проведенном исследований с использованием у 30% здоровых людей (n = 20) и у 63% пациентов с симптомами ЛФР (n=43) были выявлены эпизоды ЛФР с помощью 24-часовой pH-метрии [26]. Эпизоды заброса желудочного содержимого возникали в семь раз чаще у пациентов с симптомами ЛФР по сравнению с контрольной группой. Без «золотого стандарта» диагностики трудно определить истинную распространенность ЛФР в популяции.

**Этиопатогенез**

Этиопатогенез ЛФР включает как прямые, так и косвенные механизмы. Компоненты рефлюкса, которые содержат соляную кислоту, пепсин и желчные кислоты, могут раздражать слизистую оболочку гортани [28]. Эпизоды рефлюкса в пищевод в норме могут возникать до пятидесяти раз, тогда как рефлюкс в гортань вызывает повреждение слизистой оболочки всего после трех эпизодов [15, 19]. Прямое раздражение рефлюксом может вызвать местное воспаление слизистой оболочки и последующий ларингоспазм. Повышение чувствительности сенсорных окончаний гортани может привести к кашлю и удушью [15]. Непрямой механизм включает рефлексы гортани, вызванные рефлюксом, который не достигает тканей гортани. Рефлекс вызывает вагусно-опосредованные изменения, приводящие к клиническим симптомам, включая хронический кашель и астмоподобные симптомы при сужении бронхов. Снижение тонуса верхнего и нижнего пищеводных сфинктеров в состоянии покоя и повышение внутрибрюшного давления также связаны с болюсным рефлюксом и последующим возникновением ЛФР [4, 35]. Прямое и непрямое раздражение может иметь последствия для голосовых связок, такие как отек голосовых связок, псевдосулькус голосовых связок, контактные язвы и контактные гранулемы, связанные с охриплостью, глоточным шаром и болью в горле [13, 25]. Псевдосулькус голосовых связок, связанный с инфраглотковым отеком, был выявлен у 90% пациентов с ЛПР [13, 20].

При выявлении факторов риска развития ЛФР проведенные исследования показали, что разница в распространённости между полами отсутствует, а наиболее часто ЛФР встречается в возрастной группе 18-40 лет. Среди курящих пациентов, не употребляющих алкоголь распространенность выше, чем у некурящих и непьющих, при чем в двух группах отличие значимо. Показатели тревожности у людей с ЛФР по шкале тревоги и депрессии Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) выше, что доказывает роль психических факторов как одних из провокаторов ЛФР [2, 7, 30]. Также в исследованиях было показано, что пищевые привычки, тесная одежда и избыточный вес способствуют развитию ЛФР. Это состояние чаще встречается у людей, которые обычно употребляют кислые, жирные, острые продукты и употребляют алкоголь. Люди с избыточным весом более склонны к этому заболеванию [7]. Инфицирование бактерией H.pylori оказывает определенную роль в развитиии симптомов ЛФР: в систематическом обзоре и мета-анализе 14 клинических испытаний и обсервационных исследований 2017 года распространенность H. pylori среди пациентов с ЛФР составила 44% [10].

**Клиническая картина**

ЛФР – независимый фактор риска заболеваний слизистой дыхательного тракта, представляющий собой динамический процесс разрушения и изменения барьеров слизистой, в основе которого лежат сложные механизмы взаимодействия рефлюксанта и слизистой оболочки. Клиническая сипмтоматика имеет прямую зависимость от множества ферментов гастродуоденальной зоны, изменяющих микробиом полости рта и верхних дыхательных путей с нарушением биохимических процессов клеток слизистой оболочки [27]. Характерные жалобы пациентов с ЛФР – осиплость голоса (71%), кашель (51%), «ком» в горле (47%), желание постоянно прочищать горло (42%), дисфагия (35%) [13, 25]. Изжогу как симптом в современной врачебной практике часто ассоциируют с ГЭРБ, при этом рискуя пропустить основную патологию, что приводит к отсутствию эффекта от лечения и развитию осложнений. Изжога является наиболее распространенным симптомом ГЭРБ, встречающимся более чем в 75% случаев [25], однако около 40% пациентов с ЛФР сообщают об изжоге [13,25].

Выделяют также атипичную форму ЛФР, где многие симптомы неспецифически связаны с заболеваниями носа, такими как аллергический ринит, постназальный затек и заложенность носа, при этом при этом данная симптоматика регрессирует при адекватном антирефлюксном лечении [9, 38]. При оценке пикового носового инспираторного потока (PNIF) у пациентов с ЛФР до и

после 2-месячного курса антирефлюксной терапии отмечено его увеличение, из чего следует вывод о негативном влиянии ЛФР на данный показатель [8]. Одним из патогенетических факторов простого хронического тонзиллита является ЛФР, на что указывает положительная реакция на антирефлюксную терапию [13, 25]. Частным случаем ЛФР является назофарингеальный рефлюкс, который больше воздействует на слизистую носоглотки, вызывая отек, гиперемию и гипертрофию [16]. У пациентов с тонзиллофарингитом при проведении культурального посева со слизистой небных миндалин присутствует кишечная флора [1]. Также ЛФР является фактором, осложняющим течение послеоперационного периода после тонзиллотомии при хроническом тонзиллите: стойкая продолжительная боль, высокий риск послеоперационного кровотечения [37]. Исследования также выявили связь между ЛФР и неприятным запахом изо рта, нарушениями вкуса или обоняния [12]. Также выявлено, что кислотный рефлюкс может быть связан с проблемами среднего и внутреннего уха, такими как средний отит, шум в ушах и периферическое головокружение [16]. Механизм, лежащий в основе этих заболеваний внутреннего уха, может быть связан с тем, что соляная кислота и пепсин просачиваются в среднее ухо через евстахиевы трубы и влияет на костные структуры. При исследованиях выпота и промывной жидкости из уха детей с гнойным отитом с высокой частотой были обнаружены одновременно пепсин А, ДНК бактерий, IL-8 и TNF-α, что характеризует их взаимную роль в патогенезе острого гнойного отита. До сих ведутся активные научные работы по исследованию связи между ларингофарингеальным рефлюксом и рецидивирующим отитом путем выявления пепсина в выпоте из среднего уха [28,29]. ЛФР также был связан с гранулемами голосовых складок, ларингоспазмом, отеком Рейнке и полипами голосовых связок, а также развитием подязычкового стеноза [25]. В связи с обнаружением пепсина в слезе и слизистой носа в последние годы ведутся исследования о роли ЛФР как провокатора глазных расстройств - гипофарингеально-назальный рефлюкс [31]. На данный момент есть данные, что больные ЛФР достоверно чаще жалуются на нарушение сна и бессонницу, при этом степень ЛФР коррелирует с тяжестью бессонницы [24].

**Диагностика**

В настоящее время имеются значительные разногласия по поводу «золотого стандарта» диагностики ларингофарингеального рефлюкса, и не существует теста, который был бы одновременно простым в выполнении и высоконадежным. В большинстве случаев клинический диагноз ЛФР основывается на сочетании типичных жалоб, анамнеза пациента, результатов дополнительных методов обследования [20].

Опросник индекс симптомов рефлюкса (RSI) может помочь в диагностике ЛФР (табл. 1) [5]. RSI рассчитывается с использованием простого вопросника из девяти пунктов, в котором пациенты оценивают тяжесть своих симптомов ЛФР по шкале Likert, где 0 означает отсутствие симптомов, а 5 – крайне выраженную степень симптомов. Максимальный балл составляет 45, а балл более 13 диагностируется как аномальный кислотный рефлюкс, который может подтвердиться результатами суточной PH-метрии [22].

Таблица 1. Индекс симптомов рефлюкса (RSI)

| № | Симптом | Баллы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Осиплость или другие проблемы с голосом | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 2 | Чувство першения в горле | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 3 | Чрезмерное отхаркивание слизи или затекание из носа | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 4 | Затруднения при глотании пищи, жидкости или таблеток | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 5 | Кашель после еды или после перехода в горизонтальное положение | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 6 | Затруднение дыхания или эпизоды удушья | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 7 | Мучительный или надсадный кашель | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 8 | Ощущение кома в горле | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 9 | Изжога, боль в груди, кислая отрыжка | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | Всего баллов | | | | | | |

Ларингоскопия на предмет признаков раздражения гортани, связанного с рефлюксом, выполняются с использованием гибких трансназальных или жестких трансоральных ларингоскопов. Признаки раздражения гортани включают облитерацию желудочков, отек

голосовых складок, псевдосулькус, а также утолщение, покраснение и отек, локализующиеся главным образом в задней части гортани, включая заднюю стенку глотки, черпаловидные отростки и межаритеноидную область [19].

Тем не менее, существует слабая корреляция между симптомами ЛФР и результатами эндоскопии. Признаки раздражения гортани также могут быть результатом нерефлюксной этиологии, такой как аллергия, курение, а также повышенная нагрузка на голосовые связки. Таким образом, точная ларингоскопическая оценка ЛФР, вероятно, будет затруднена, и не рекомендуется ставить диагноз ЛФР исключительно на основании результатов ларингоскопии [23].

Шкала признаков рефлюкса (RFS) – валидированная шкала клинической тяжести из восьми пунктов, используемая врачами для оценки тяжести признаков воспаления, выявленных при ларингоскопическом исследовании, включая псевдосулькус, облитерацию желудочков, эритему или гиперемию, отек голосовых складок, диффузный отек гортани, гипертрофию задней спайки, гранулему или грануляционную ткань и густую слизь эндоларингеальной полости таблица 2). Врачи оценивают тяжесть каждого симптома, присваивая баллы (от 0 до 26 баллов). ЛФР может быть диагностирован с вероятностью 95% в случаях, когда RFS превышает 7 баллов [5].

Таблица 2. Шкала признаков рефлюкса (RFS)

| № | Симптом | Балл |
|---|---|---|
| 1 | Подгортанный отек | 0 (нет); 2 (есть) |
| 2 | Вентрикулярная облитерация | 0 (нет); 2 (частичная); 4 (полная) |
| 3 | Эритема/гиперемия | 0 (нет); 2 (локальная); 4 (диффузная) |
| 4 | Отек голосовых связок | 0 (нет); 1 (легкий); 2 (умеренный); 3 (тяжелый); 4 (обструктивный) |
| 5 | Диффузный отек гортани | 0 (нет); 1 (легкий); 2 (умеренный); 3 (тяжелый); 4 (обструктивный) |
| 6 | Гипертрофия задней комиссуры | 0 (нет); 1 (легкий); 2 (умеренный); 3 (тяжелый); 4 (обструктивный) |
| 7 | Гранулемы или грануляции | 0 (нет); 2 (есть) |
| 8 | Утолщение эндоларингеальной слизистой | 0 (нет); 2 (есть) |
| Всего баллов | | |

24-часовая pH-метрия проводится зондом с двумя датчиками (одновременно измеряется pH пищевода и ротоглотки) и обладает чувствительностью 93,3% и специфичностью 90,4% [31]. Возможно применение pH-мониторинга для оценки эффективности медикаментозного лечения при ЛФР, однако он считается менее надежным тестом для подтверждения диагноза ЛФР. Это в первую очередь связано с трудностями, связанными с интерпретацией данных мониторинга pH, и отсутствием консенсуса относительно нормальных пределов pH и вариантов размещения зонда [25]. Еще одной проблемой, связанной с pH-мониторингом, является его неспособность обнаружить газообразный и/или некислотный рефлюксат, который потенциально вреден для гортани.

Эзофагогастродуоденоскопия (ФГДС) может выявлять признаки, связанные с ГЭРБ, такие как эзофагит и пищевод Барретта, а также злокачественные новообразования, однако данное исследование оказалась менее информативным при выявлении ЛФР [25,64]. В одном исследовании ФГДС выявил поражения пищевода у 50% пациентов с ГЭРБ и менее чем у 20% пациентов с ЛФР [37].

Диагностическая терапия ингибиторами протонной помпы (ИПП) – один из методов, который был предложен для диагностики ЛФР. Однако контролируемые испытания ИПП показали значительный эффект в группах, получавших плацебо. В одном исследовании, в котором измерялся ответ на ИПП по изменению уровня pH у 27 пациентов с ЛФР с исходными аномалиями уровня pH, 4 из 5 пациентов, у которых не было выявлено измеримого ответа pH на ИПП, все еще сообщали об улучшении симптомов [34].

Молекулярные и гистологические методы включают оценку концентрации эпидермального фактора роста в слюне (EGF), иммунологических маркеров, экспрессии генов слизистой оболочки гортани и гистологических изменений у пациентов с подозрением на ЛФР. У пациентов с ЛФР были обнаружены более низкие концентрации EGF в слюне по сравнению с контрольными пациентами [17]. EGF участвует в регенерации эпителия вследствие физической или химической травмы. В образцах эпителия гортани от пациентов с ЛПР было обнаружено увеличение количества естественных клеток-киллеров (NKT), а также уровней антигенпредставляющей

молекулы CD1d и эндогенного гликофосфолипида iGb3 по сравнению с нормальными образцами [6]. Повышенные уровни iGb3 и CD1d могут стимулировать систему NKT и поддерживать хроническое воспаление. Это может служить системой-мишенью для будущей фармакотерапии. Гистологические изменения в гортани, аналогичные тем, которые наблюдаются при биопсии пищевода у пациентов с ГЭРБ с кислотным поражением, были обнаружены у пациентов с ЛФР, включая расширение межклеточных пространств и иногда у пациентов с многочисленными цитоплазматическими вакуолями [34]. Эти изменения, признанные маркерами повреждения кислоты в пищеводе, могут оказаться полезными в качестве маркеров ЛФР.

PeptestTM — это неинвазивный диагностический тест для измерения концентрации пепсина в слюне. В патогенезе ЛФР основным раздражителем является пепсин, воздействующий на карбонатангидразу CAIII и белок Sep 70, при этом периваривая белки и ухудшая функцию клеток верхних дыхательных путей путем инициации воспаления в носовой полости, глотке и гортани. При ЛФР пепсин обнаруживается в слюне. Данное явление положено в новое направление диагностики данного заболевания. При применении многоточечного тестирования пепсина в слюне в течение дня процент диагностированного ЛФР значительно выше по сравнению с однократным утренним измерением. PeptestTM позволяет выявить ЛФР, однако отрицательный результат не даёт возможности исключить диагноз. Вследствие его умеренной специфичности и чувствительности необходимы дополнительные исследования [10]. Положительный PeptestTM статистически значимо выявляет ЛФР в дополнение к положительному ответу на пробное лечение ИПП и высоким показателям индекса симптомов рефлюкса (RSI) [40].

Шкала Хорвата была разработана в 2021 г. для оценки степени тяжести ЛФР, вида ЛФР (кислотного, щелочного,нетрального) и определения динамики терапии. Для определения количества баллов по шкале Хорвата включены 4 проверенных диагностических метода: показатель индекса симптомов рефлюкса (RFI), оценка определения рефлюкса (RFS), суточного мониторинга pH-ротоглотки и трансназальная эзофагоскопия [21]. Каждое из исследований дает по 1 баллу, если были выявлены патологические изменения, или 0 баллов, если отмечались нормальные результаты. В случае выраженного рефлюкса по результатам PH-метрии присваивается дополнительный балл (рисунок 1). Общее количество баллов дает оценку Хорвата, которая, следовательно, включает диапазон баллов от 0 до 5. Таким образом, тяжелый ЛФР присутствует, если оценка составляет 4-5 баллов, в то время как нетяжелый ЛФР (т.е. умеренный, легкий, нейтральный и щелочной рефлюкс) оценивается в 2-3 балла, и отсутствует при 0-1 балле.

Рис. 1. Блок-схема обследования пациентов с подозрением на ларингофарингеальный рефлюкс (Лукас Хорват, Патриция Хаган, Эммануэль Бури, Марсель Крафт, 2021)

**Лечение**

Важно, чтобы ЛФР был вовремя диагностирован и эффективно лечился. Исследования показали, что примерно у половины пациентов с легкой формой ЛФР можно избежать симптомов, изменив свой образ жизни [19]. Было показано, что приподнятое изголовье кровати предотвращает симптомы ЛФР. Пациентам также рекомендуется отказаться от курения и алкоголя, сбросить вес и избегать тесной одежды. Курение сигарет напрямую связано с задержкой кислоты, что приводит к дальнейшему замедлению выведения кислоты из пищевода. Также было показано, что у курильщиков более высокая частота симптомов рефлюкса по сравнению с некурящими.

Исследователи выявили прямую связь между потреблением алкогольных напитков и рефлюксом. Алкогольные напитки всех видов являются прямой причиной изжоги. Употребление большого количества алкоголя сопряжено с одинаковыми рисками, независимо от того, было ли это пиво, вино или крепкие напитки. Также было обнаружено, что вино и пиво вызывают рефлюкс, даже в небольших количествах. Эндоскопические исследования показали, что белое вино и пиво оказывают сходное воздействие на рефлюкс-эзофагит и аномальные уровни pH. Белое вино оказывает более выраженное влияние на кислотность, чем красное вино [25]. Снижение веса имеет важное значение для пациентов, страдающих ЛФР и ГЭРБ. Исследования показали тесную взаимосвязь между ожирением и кислотным рефлюксом, а высокий индекс массы тела (ИМТ) напрямую связан с кислотным рефлюксом. Увеличение веса может усугубить симптомы рефлюкса, а снижение массы тела может позволить пациентам снизить частоту приема лекарств от рефлюкса [25, 34]. Пациентам также рекомендуется ежедневно заниматься физическими упражнениями продолжительностью не менее 30 минут для предотвращения симптомов рефлюкса [32]. Симптомы ЛФР могут быть уменьшены путем изменения привычек питания. Пациентам рекомендуется принимать пищу не позже, чем за два часа до сна [14]. Кроме того, также рекомендуется снизить употребление кофе или газированных напитков, которые, как известно, влияют на кислотность и вызывают рефлюкс [14, 32]. Острая пища раздражает слизистую нижней части пищевода, вызывая изжогу и ощущение жжения в груди. Известно, что продукты с высоким содержанием жиров и какао продлевают опорожнение желудка, дольше перевариваются и связаны с более высокой частотой ГЭРБ и эрозивного эзофагита [35]. Одно исследование показало, что высококалорийная диета была связана с длительной кислотностью в желудке, что могло усугубить симптомы рефлюкса [13].

Медикаментозное лечение включает в себя подавление кислотности с помощью ингибиторов протонной помпы (ИПП) и является основой медикаментозного лечения ЛФР. Антагонисты H2-рецепторов, прокинетические средства и цитопротекторы слизистой оболочки (например, сукральфат) могут обеспечить дополнительные преимущества [14, 15]. Нейромодуляторы (например, трициклические антидепрессанты, габапентин и прегабалин) могут быть вариантом для пациентов с симптомами, которые не облегчаются подавлением кислотности, особенно в случаях, когда чувствительность гортани (невропатия) способствует появлению симптомов ЛФР [13, 25]. Лечение ЛФР обычно требует агрессивного подхода, включая высокие дозы ИПП в течение длительных периодов (два раза в день в течение 3-4 месяцев) [19, 25].

Хирургическое вмешательство обычно является последним средством в лечении ЛФР [13]. Пациентов следует предупредить, что реакция симптомов на хирургическое вмешательство неопределенна. Хирургическое вмешательство следует применять только в тех случаях, когда пациенты ответили на терапию ИПП, но не достигли полного облегчения симптомов ЛФР.

**Последствия ЛФР**

На данный момент в связи с расхожестью исследований до конца не определена ведущая или второстепенная роль ЛФР в развитии нефункциональных заболеваний гортани: лейкоплакия, папилломатоз, стеноз гортани и гранулёма голосовой складки [18]. Большинство больных гипертрофическими заболеваниями гортани имеют высокие показатели шкалы индекса симптомов рефлюкса (RSI) в результате хронического воспаления и дисплазии вследствие ЛФР. Частоповторяющиеся приступы ЛФР провоцируют хронический воспалительный процесс слизистой, что может служить субстратом для метаплазии и других предраковых состояний. Также сообщается о потенциальных ассоциациях между кислотным рефлюксом и новообразованиями пищевода и ротоглотки кислый ЛФР, что имеет влияние на степень тяжести дисплазии, а также на формирование плоскоклеточного рака [26]. Доказано, что ЛФР в результате хронического воспалительного процесса в сочетании с вирусом папилломы человека (ВПЧ) способствует развитию плоскоклеточной карциномы гортани с характерным изменением поляризации макрофагов. Поражение гортани при ЛФР не носит специфический характер, поэтому подход к диагностике и лечению должен быть комплексным [35]. Также среди осложнений ЛФР можно выделить хронический кашель, грануляции черпаловидных желез, астму, бронхит, хроническим ринит, синусит и средний отит [26].

**Особенности ЛФР у детей**

У 40% детей до года рефлюкс связан с аллергией на белок коровьего молока и незрелостью естественных барьеров. Аллергия на белок коровьего молока может индуцировать ГЭР и ЛФР, а также быть предрасполагающим фактором к функциональным расстройствам желудочно-кишечного тракта. И наоборот, лечение ГЭРБ ингибиторами протонной помпы увеличивает риск развития аллергии в более позднем возрасте [33]. Клинически ЛФР у детей раннего возраста

может проявляться в виде отказа от пищи, предпочтения жидкой и избегания твердой пищи, вследствие чего выявляется недостаточная прибавка массы тела. Также могут наблюдаться охриплость, дисфагия, хронический кашель, периодическая рвота, ощущение кома в горле, горечь в полости рта и иногда обструкция дыхания, вторичная по отношению к ларингоспазму. Следует иметь в виду, что у детей один только ЛФР редко вызывает осиплость голоса, и следует выполнить ларингоскопию со стробоскопией, чтобы исключить сопутствующие поражения, включая узелки в голосовых складках, полипы, гранулему или отек, стеноз гортани или трахеи, ларингоспазм, отек подглотки, эритему, гиперемию, гипертрофию или гранулему слизистой оболочки, отек гортани и густую слизь [5]. Наличие срыгиваний до года, протекающие 3 и более месяца, обуславливают высокий риск возникновения рефлюкса в более старшем возрасте [2]. К сожалению, существует проблема ведения детей с ЛФР. Особенности роста и развития ребенка обуславливают стертость клинической картины и низкую выявляемость ЛФР, что приводит к ухудшению соматического здоровья в виде хронической патологии лор-органов, зубов и т.д. и постановке диагноза в более позднем возрасте.

**Особенности ЛФР у паллиативных пациентов**

Поскольку центральная нервная система контролирует органы желудочно-кишечного тракта, пациенты с неврологическими нарушениями часто страдают дисфункцией органов пищеварения. Сообщается, что у 92% детей с детским церебральным параличом (ДЦП) были клинически значимые желудочно-кишечные симптомы: гастроэзофагеальный рефлюкс в 77% случаев, трудности с глотанием - 60%, хроническая аспирация легких – 41%, хронический запор – 74% [40]. Считается, что снижение тонуса нижнего пищеводного сфинктера, задержка опорожнения желудка, нарушение моторики пищевода, неправильная осанка, повторяющиеся судороги, сколиоз и различные лекарственные препараты способствуют развитию ГЭРБ и ЛФР у детей с неврологическими нарушениями. Респираторные симптомы, которые часто встречаются при паллиативных неврологических заболеваниях, также усугубляют ГЭРБ и ЛФР [39]. Несмотря на высокую частоту, ГЭРБ и ЛФР у детей с неврологическими нарушениями трудно распознать, поскольку симптомы ГЭР неспецифичны, и многие пациенты не могут четко обозначить свои жалобы. Дети могут сообщать о своей боли в груди, связанной с ГЭРБ и ЛФР, похлопывая себя по груди и демонстрируя общую раздражительность. ГЭРБ и ЛФР часто встречается у детей с аутизмом и может проявляться только необъяснимым поведением или самоповреждением [25]. Поэтому диагностика ГЭРБ и ЛФР при паллиативных неврологических состояниях часто откладывается до развития тяжелого эзофагита или аспирационной пневмонии. Поскольку ГЭР тесно связан с аспирационной пневмонией или отказом от пищи, это может стать серьезным препятствием для надлежащей нутритивной поддержки у паллиативных пациентов, что может привести к неблагоприятному клиническому прогнозу [17]. Раннее подозрение на ГЭРБ и ЛФР, а также грамотная оценка симптомов могут предотвратить тяжелые осложнения ГЭРБ при патологии нервной системы и могут привести к улучшению клинических исходов.

## Литература (references)


1. Анготоева И.Б., Магомедова М.М. Анализ микробиоты с поверхности небных миндалин у пациентов с ларингофарингеальным рефлюксом // Российская оториноларингология. – 2022. – №2. – С. 8-15. [Angotoeva I.B., Magomedova M.M. *Rossiskaya otorinilaringologiya*. Russian Otorhinolaryngology. – 2022. – N2. – P. 8-15. (in Russian)]
2. Разуваева Ю.Ю., Леднёва В.С., Леонова В.В. и др. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь у детей, в том числе у паллиативных педиатрических пациентов // Лечащий Врач. – 2023. – №6. – С. 42-47. [Razuvaeva Yu.Yu., Ledneva V.S., Leonova V.V. i dr. *Lechyashchii vrach.* Attending physician. – 2023. – N6. – P. 42-47. (in Russian)]
3. Шадрина Н.Е., Вольская О.С., Тучков И.А. и др. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и хронический кашель // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – №2. – С. 140-145. [Shadrina N.E., Volskaya O.S., Tuchkov I.A. i dr. *Vestnik Smolenskoi gosudarstvennoi meditcinskoi akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2023. – N2. – P. 140-145]
4. Aviv J.E., Liu H., Parides M. et al. Laryngopharyngeal sensory deficits in patients with laryngopharyngeal reflux and dysphagia // The Annals of otology, rhinology, and laryngology. – 2000. – V.109, N11. – P.1000-1006.
5. Belafsky P.C., Postma G.N., Koufman J.A. Validity and reliability of the reflux symptom index (RSI) // Journal of Voice. – 2002. – V.16, N2. – P. 274-277.

6. Birchall M.A., Bailey M., Gutowska-Owsiak D. et al. Immunologic response of the laryngeal mucosa to extraesophageal reflux // The Annals of otology, rhinology, and laryngology. – 2008. – N117. – P.891.
7. Campagnolo A.M., Priston J., Thoen R.H., Medeiros T., Assunção A.R. Laryngopharyngeal reflux: diagnosis, treatment, and latest research // International Archives of Otorhinolaryngology. – 2014. – V.18, N2. – P. 184-191.
8. Ceylan S.M., Kanmaz M.A., Disikirik I., Karadeniz P.G. Peak nasal inspiratory airflow measurements for assessing laryngopharyngeal reflux treatment // Clinical Otolaryngology. – 2021. – V46, N4. – P. 796-801.
9. Dagli E,, Yüksel A,, Kaya M,, Ugur K,S,, Turkay F,C. Association of oral antireflux medication with laryngopharyngeal reflux and nasal resistance // Journal of Otolaryngology – Head & Neck Surgery. – 2017. – V.143, N5. – P. 478-483.
10. Divakaran S., Rajendran S., Thomas R.M. et al. Laryngopharyngeal Reflux: Symptoms, Signs, and Presence of Pepsin in Saliva // A Reliable Diagnostic Triad. International Archives of Otorhinolaryngology. – 2021. – V.25, N2. – P. 273-278.
11. Diamond L. Laryngopharyngeal reflux – it's not GERD // Journal of the American Academy of Physician Assistants (JAAPA). – 2005. – V.18, N8. – P. 50-53.
12. Emre D.M, Dalgic A., Avincsal M.O. et al. An assessment of olfactory function in patients with laryngopharyngeal reflux disease // ACTA Otorhinolaryngologica Italica. – 2017. – V.137, N1. – P. 71-77.
13. Ford C.N. Evaluation and management of laryngopharyngeal reflux // Journal of the American Medical Association (JAMA). – 2005. – V.294, N12. – P. 1534-1540.
14. Franco R.A. Jr. Laryngopharyngeal reflux // UpToDate URL: https://www.uptodate.com/contents /laryngopharyngeal-reflux (дата обращения: 10.09.2023).
15. Gelardi M., Ciprandi G. Focus on gastroesophageal reflux (GER) and laryngopharyngeal reflux (LPR): new pragmatic insights in clinical practice // Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. – 2018. – V.32, N1. – P. 41-47.
16. Gorecka-Tuteja A., Jastrzębska I., Składzien J., Fyderek K. Laryngopharyngeal reflux in children with chronic otitis media with effusion. // Journal of Neurogastroenterology and Motility. – 2016. – V.22, N3. – P. 452-458. doi: 10.5056/jnm16013
17. Gossler A., Schalamon J., Huber-Zeyringer A., Höllwarth M.E. Gastroesophageal reflux and behavior in neurologically impaired children // Journal of Pediatric Surgery. – 2007. – V.42. – P. 1486-1490.
18. Han H., Lyu Q., Zhao J. Laryngopharyngeal Reflux in Hypertrophic Laryngeal Diseases // Ear, Nose & Throat Journal. – 2022. – V.101, N4. – P.158-163.
19. Hanson D.G., Jiang J.J. Diagnosis and management of chronic laryngitis associated with reflux // The American Journal of Medicine. – 2000. – N108. – P. 112-119.
20. Hickson C., Simpson C.B., Falcon R. Laryngeal pseudosulcus as a predictor of laryngopharyngeal reflux // The Laryngoscope. – 2001. – V.111, N10. – P. 1742-1745.
21. Horvath L., Hagmann P., Burri E., Kraft M. A novel scoring system for evaluating laryngopharyngeal reflux // Clinical Otolaryngology. – 2021. – V.46, N3. – P. 594-601.
22. Johnston N., Bulmer D., Gill C.A. et al. Ceil biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: further studies // The Annals of otology, rhinology, and laryngology. – 2003. – N112. – P. 481-491.
23. Katz P.O., Gerson L.B., Vela M.F. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease // The American Journal of Gastroenterology. – 2013. – V.108, N3. – P. 308-328. doi: 10.1038/ajg.2012.444.
24. Kang J.W., Park J.M., Lee Y.C., Eun Y.G. The association between laryngopharyngeal reflux and insomnia // European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. – 2022. – V.279, N7. – P. 3535-3541.
25. Koufman J.A., Aviv J.E., Casiano R.R., Shaw G.Y. Laryngopharyngeal reflux: position statement of the committee on speech, voice, and swallowing disorders of the American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery // Journal of Otolaryngology – Head & Neck Surgery. – 2002. – N127. – P. 32.
26. Kuo C.L., Chen Y.T., Shiao A.S. et al. Acid reflux and head and neck cancer risk: A nationwide registry over 13 years // Auris Nasus Larynx. – 2015. – V.42, N5. – P. 401-405.
27. Lechien J.R., Bock J.M., Carroll T.L., Akst L.M. Is empirical treatment a reasonable strategy for laryngopharyngeal reflux? A contemporary review // Clinical Otolaryngology. – 2020. – V.45, N4. – P. 450-458.
28. Lechien J.R., Hans S., Simon F. et al. Association Between Laryngopharyngeal Reflux and Media Otitis: A Systematic Review // Otology&Neurotology. – 2021. – V.41, N7. – P. 801-814.
29. Lei L., Yu Z., Yu R. et al. Correlation of pathogenic effects of laryngopharyngeal reflux and bacterial infection in COME of children // Acta Oto-Laryngologica. – 2021. – V.141, N5. – P. 454-458.

30. Li C.F., Zhang L.H., Wang W.L. et al. The prevalence and relationship between laryngopharyngeal reflux disease, anxiety and depression in otolaryngology outpatients // Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. – 2020. – V.7, N55. – P. 241-248.
31. Mayo-Yanez M., Vina-Vazquez S., Lechien J.R. et al. Involvement of Laryngopharyngeal Reflux in Ocular Diseases: A State-of-the-Art Review // Journal of Voice. – 2023. – V.37, N4. – P. 586-597.
32. Nocon M., Labenz J., Willich S.N. Lifestyle factors and symptoms of gastro-oesophageal reflux – a population-based study // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2006. – V.23, N1. – P. 169-174.
33. Pensabene L., Salvatore S., D'Auria E., Parisi F., Concolino D., Borrelli O., Thapar N., Staiano A., Vandenplas Y., Saps M. Cow's Milk Protein Allergy in Infancy: A Risk Factor for Functional Gastrointestinal Disorders in Children? // Nutrients. – 2018. – N10. – P. 1716.
34. Reichel O., Keller J., Rasp G., et al. Efficacy of once-daily esomeprazole treatment in patients with laryngopharyngeal reflux evaluated by 24-hour pH monitoring // Journal of Otolaryngology – Head & Neck Surgery. – 2007. – N136. – P. 205.
35. Roussa E., Thevenod F. Distribution of V-ATPase in rat salivary glands // European Journal of Morphology. – 1998. – N36. – P. 147-152.
36. Snow G., Dhar S.I., Akst L.M. How to Understand and Treat Laryngopharyngeal Reflux. // Gastroenterology Clinics of North America. – 2021. – V.50, N4. – P. 871-884.
37. Tan J., Li X., Zhao Y. et al. Role of laryngopharyngeal reflux (LPR) in complications after tonsillectomy in adult patients // Acta Oto-Laryngologica. – 2021. – V.141, N10. – P. 948-952.
38. Wang Y.G., Guo Y.H., Li C.F. et al. Investigation of laryngopharyngeal reflux prevalence and risk factors in otolaryngology // Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. – 2020. – V.34, N1. – P. 33-35.
39. Wenzl T.G., Rawat D., Thomson M. Acid and nonacid gastro-oesophageal reflux in neurologically impaired children: investigation with the multiple intraluminal impedance procedure // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. – 2006. – N4. – P. 331-335.
40. Zelenik K., Hrankova V., Vrtkova A. et al. Diagnostic Value of the PeptestTM in Detecting Laryngopharyngeal Reflux // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – V.5, N10. – P. 2996.

**Информация об авторах**

*Разуваева Юлия Юрьевна* – ассистент кафедры факультетской и паллиативной педиатрии ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: peshkovayusya@yandex.ru

*Леднева Вера Сергеевна* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой факультетской и паллиативной педиатрии ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: lvsmed@yandex.ru

*Леонова Виктория Владимировна* – студент педиатрического факультета ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: vika.sorokina27072000@mail.ru

*Леонов Савелий Александрович* – студент 6 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: savhrebet@ya.ru

*Ульянова Людмила Владимировна* – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской и паллиативной педиатрии ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: lusha8722@yandex.ru

*Разуваев Олег Александрович* – кандидат медицинских наук., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: oleg.razuvaev@gmail.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 18.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

*УДК 615.453.4.014.6* 3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.23 EDN: VAVWPG*

# ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК АДСОРБЦИИ ВИНПОЦЕТИНА НА КОЛЛОИДНЫХ ЧАСТИЦАХ ЗОЛЯ ГИДРОКСИДА ЖЕЛЕЗА

**© Полковникова Ю.А.**

*Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, 394018, Воронеж, Университетская площадь, 1*

*Резюме*

**Цель.** Изучение характеристик адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа с целью оценки различных критериев эффективности адсорбции винпоцетина на липосомах.

**Методика.** В качестве адсорбента сравнения использован золь гидроксида железа (III) полученный методом химической реакции. Для определения характеристик адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа (III) определяли равновесную концентрацию винпоцетина в дисперсионной среде при различных начальных концентрациях винпоцетина. Отделение дисперсионной среды от коллоидных частиц производили с использованием колоночной хроматографии. Количественное определение винпоцетина в элюатах производили методом спектрофотометрии. По рассчитанным величинам адсорбции винпоцетина на частицах золя определены константы уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра.

**Результаты.** Рассчитаны константы уравнений Фрейндлиха (1/n 0,61401±0,20755; k, моль/кг 49,24816±22,19217) и Ленгмюра ($A_\infty$, моль/кг 0,26566±0,12997; b, моль/л $6{,}21445\times10^{-5}\pm12{,}556\times10^{-5}$).

**Заключение.** Полученные в ходе работы данные показали, что предельная адсорбция винпоцетина на липосомах значительно ниже таковой для адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа (III). Константа b уравнения Ленгмюра меньше по сравнению с таковой для адсорбции на частицах золя гидроксида железа (III), что говорит о достаточно эффективной адсорбции винпоцетина липосомами при низкой концентрации.

*Ключевые слова:* адсорбция, винпоцетин, адсорбент сравнения, гидроксид железа, колоночная хроматография

# STUDYING CHARACTERISTICS OF ADSORPTION OF VINPOCETENE ON COLLOID PARTICLES OF IRON HYDROXIDE SOL

Polkovnikova Yu.A.

*Voronezh State University, 1, University Square, 394018, Voronezh, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To study the adsorption characteristics of vinpocetine on colloidal particles of iron hydroxide sol in order to evaluate various criteria for the efficiency of vinpocetine adsorption on liposomes.

**Methods**. As an adsorbent for reference, an iron (III) hydroxide sol obtained by a chemical reaction was used. To determine the characteristics of adsorption of vinpocetine on colloidal particles of iron (III) hydroxide sol, the equilibrium concentration of vinpocetine in a dispersion medium was determined at various initial concentrations of vinpocetine. The separation of the dispersion medium from colloidal particles was carried out using column chromatography. Quantitative determination of vinpocetine in eluates was carried out by spectrophotometry. The calculated values of adsorption of vinpocetine on sol particles were used to determine the constants of the Freundlich and Langmuir equations.

**Results**. The constants of the Freundlich equations (1/n 0,61401±0,20755; k, mol/kg 49,24816±22,19217) and Langmuir ($A\infty$, mol/kg 0,26566±0,12997; b, mol/kg 0,26566±0,12997; b, mol/kg l $6{,}21445\times10^{-5}\pm12{,}556\times10^{-5}$) were calculated.

**Conclusion.** The data obtained in the course of the work showed that the limiting adsorption of vinpocetine on liposomes is significantly lower than that for the adsorption of vinpocetine on colloidal particles of iron hydroxide sol (III). The constant b of the Langmuir equation is less than that for adsorption on iron (III) hydroxide sol particles, which indicates a fairly effective adsorption of vinpocetine by liposomes at a low concentration.

*Keywords:* adsorption, vinpocetine, reference adsorbent, iron hydroxide, column chromatography

## Введение

Липосомы представляют собой закрытые сферические везикулы, состоящие из одного или нескольких бислоев фосфолипидов, в которых могут находиться молекулы лекарственных средств. Липосомы также считаются имитаторами клеточных мембран, поскольку они могут состоять из тех же фосфолипидов, что и плазматические мембраны клеток [7].

Вычислительные и экспериментальные исследования транслокаций молекул, подобных лекарственным средствам, через биологические мембраны имеют решающее значение для разработки различных систем доставки лекарственных средств [9]. Кроме того, изучение адсорбционных и транспортных свойств молекул, подобных лекарственных средствам, через бислой фосфолипидов в присутствии других молекул дает ключевую информацию о потенциальных взаимодействиях, когда одна фармацевтическая субстанция может взаимодействовать с другой, изменяя ее безопасность или эффективность в живых организмах [3, 5]. Проведенные ранее исследования по определению характеристик адсорбции винпоцетина на липосомах позволили определить константы уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра [4].

Цель исследования – изучение характеристик адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа с целью оценки различных критериев эффективности адсорбции винпоцетина на липосомах.

## Методика

В качестве адсорбента сравнения использован золь гидроксида железа (III), полученный методом химической реакции между хлоридом железа (III) (SIGMA–ALDRICH (США)) и гидроксидом натрия (SIGMA–ALDRICH (США). Для получения золя гидроксида железа (III) 500 мл воды очищенной доводили до кипения и добавляли по каплям 5 мл раствора хлорида железа (III) 0,02 М. Кипятили реакционную смесь в течение 5 мин, получали коллоидный раствор гидроксида железа (III) бурого цвета. Для исследования использовали винпоцетин ((3α,16α)-Эбурнаменин-14-карбоксиловой кислоты этиловый эфир.) (АО «Акрихин», Россия).

Для определения характеристик адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа (III) определяли равновесную концентрацию винпоцетина в дисперсионной среде при различных начальных концентрациях винпоцетина. Отделение дисперсионной среды от коллоидных частиц производили с использованием колоночной хроматографии [6]. Количественное определение винпоцетина в элюатах производили методом спектрофотометрии. По рассчитанным величинам адсорбции винпоцетина на частицах золя были определены константы уравнений Фрейндлиха (1) и Ленгмюра (2) [1]:

$$A = kC^{1/n} \quad (1)$$

$$A = A_{\infty}\frac{c}{b+c} \quad (2)$$

, где A – величина адсорбции, моль/кг, C – концентрация адсорбтива, моль/л, k – константа уравнения Фрейндлиха, моль/кг, 1/n – константа уравнения Фрейндлиха, $A_{\infty}$ – предельная адсорбция, моль/кг, b – концентрация адсорбтива, при которой достигается половина предельной адсорбции, моль/л

Для определения констант уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра была определена величина адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах при различной концентрации раствора. Для определения величины адсорбции винпоцетина использованы концентрации до адсорбции и равновесные концентрации адсорбтива в дисперсионной среде. Для определения концентрации винпоцетина в дисперсионной среде производилось отделение среды от коллоидных частиц с использованием колоночной хроматографии [2, 3].

В качестве адсорбента для колоночной хроматографии был использован силикагель L 40/100. Пробы были приготовлены в соответствии с табл. 1.

Таблица 1. Объемы жидкостей для приготовления проб вносимых в колонки для отделения дисперсионной среды от коллоидных частиц

| Номер раствора | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Объем разведения РСО винпоцетина, мл | 2,0 | 1,5 | 1,0 | 0,5 | 2,0 | 1,5 | 1,0 | 0,5 |
| Объем спирта этилового, мл | 0,0 | 0,5 | 1,0 | 1,5 | 0,0 | 0,5 | 1,0 | 1,5 |
| Объем воды очищенной, мл | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Объем золя $Fe(OH)_3$, мл | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |

Пробы вносили в колонки в объеме 1,0 мл, после чего добавляли элюент – этиловый спирт 96%. В процессе элюирования производился сбор элюатов, измерение их объема и спектрофотометрический анализ с использованием спектрофотометра СФ-56. Для статистической обработки полученных результатов использована программа статистической обработки Stat Soft Statistica 6.0 Microsoft Excel.

## Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведения колоночной хроматографии были получены определенные объемы элюатов, объемы которых представлены в табл. 2.

Таблица 2. Объемы элюатов, полученных при проведении колоночной хроматографии

| № элюата | Объем элюата, мл | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Винпоцетин + $H_2O$ | | | | Винпоцетин + $Fe(OH)_3$ | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 3,00 | 3,25 | 3,95 | 2,90 | 2,45 | 2,40 | 2,45 | 2,65 |
| 2 | 2,65 | 2,60 | 2,75 | 2,70 | 2,95 | 2,60 | 2,05 | 3,15 |
| 3 | 2,70 | 2,55 | 3,00 | 2,45 | 2,75 | 2,35 | 2,60 | 2,80 |
| 4 | 3,05 | 2,40 | 2,95 | 2,75 | 3,05 | 2,90 | 2,25 | 3,15 |
| 5 | 2,60 | 3,25 | 3,95 | 2,85 | 3,05 | 3,85 | 2,55 | 2,65 |
| 6 | 2,85 | 3,30 | 3,50 | 2,15 | 3,00 | 2,65 | 2,20 | 2,65 |
| 7 | 2,25 | 2,65 | 3,65 | - | - | - | - | - |

Полученные для элюатов значения оптической плотности были далее использованы для определения концентрации винпоцетина (табл. 3). При этом расчет количественного содержания винпоцетина проводили с учетом разведения РСО.

Таблица 3. Результаты исследования концентрации винпоцетина в элюатах (моль/л)

| Концентрации винпоцетина в элюатах, моль/л | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Винпоцетин + $H_2O$ | | | | Винпоцетин + $Fe(OH)_3$ | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $4,25\times10^{-6}$ $\pm0,27\times10^{-7}$ | $3,94\times10^{-6}$ $\pm5,03\times10^{-7}$ | $4,78\times10^{-6}$ $\pm2,77\times10^{-7}$ | $3,32\times10^{-6}$ $\pm7,73\times10^{-7}$ | $5,47\times10^{-6}$ $\pm2,85\times10^{-7}$ | $1,87\times10^{-6}$ $\pm8,23\times10^{-9}$ | 0 | $1,43\times10^{-6}$ $\pm4,44\times10^{-7}$ |
| $8,52\times10^{-5}$ $\pm6,00\times10^{-6}$ | $6,66\times10^{-5}$ $\pm4,27\times10^{-6}$ | $4,44\times10^{-5}$ $\pm1,88\times10^{-6}$ | $2,02\times10^{-5}$ $\pm7,013\times10^{-6}$ | $3,06\times10^{-5}$ $\pm0,20\times10^{-6}$ | $2,26\times10^{-5}$ $\pm0,44\times10^{-6}$ | $1,99\times10^{-5}$ $\pm6,03\times10^{-6}$ | $7,95\times10^{-6}$ $\pm4,23\times10^{-7}$ |
| $1,00\times10^{-4}$ $\pm4,88\times10^{-5}$ | $8,5\times10^{-5}$ $\pm3,01\times10^{-6}$ | $3,77\times10^{-5}$ $\pm9,83\times10^{-7}$ | $3,17\times10^{-5}$ $\pm0,93\times10^{-6}$ | $1,21\times10^{-5}$ $\pm8,83\times10^{-6}$ | $1,61\times10^{-5}$ $\pm8,66\times10^{-6}$ | $8,90\times10^{-6}$ $\pm1,03\times10^{-7}$ | $1,46\times10^{-6}$ $\pm9,20\times10^{-8}$ |
| $1,01\times10^{-5}$ $\pm6,44\times10^{-6}$ | $1,63\times10^{-5}$ $\pm3,56\times10^{-6}$ | $3,33\times10^{-6}$ $\pm9,55\times10^{-8}$ | $2,03\times10^{-5}$ $\pm8,23\times10^{-7}$ | $1,42\times10^{-7}$ $\pm1,03\times10^{-8}$ | 0 | $6,79\times10^{-7}$ $\pm9,11\times10^{-8}$ | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

С использованием величин концентраций и объемов элюатов были вычислены количества винпоцетина в элюатах, а также суммарные количества винпоцетина, вышедшие из хроматографических колонок (табл. 4).

Таблица 4. Результаты исследования количества винпоцетина в элюатах (моль)

| № | Количество вещества в элюатах, моль | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Винпоцетин + $H_2O$ | | | | Винпоцетин + $Fe(OH)_3$ | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | $1,13\times10^{-8}$ $\pm0,99\times10^{-9}$ | $1,02\times10^{-8}$ $\pm6,23\times10^{-9}$ | $1,31\times10^{-8}$ $\pm0,93\times10^{-9}$ | $8,97\times10^{-9}$ $\pm0,10\times10^{-10}$ | $1,61\times10^{-8}$ $\pm8,83\times10^{-9}$ | $4,85\times10^{-9}$ $\pm3,00\times10^{-10}$ | 0 | $4,5\times10^{-9}$ $\pm1,20\times10^{-10}$ |
| 3 | $2,30\times10^{-7}$ $\pm 4,03\times10^{-8}$ | $1,70\times10^{-7}$ $\pm0,93\times10^{-8}$ | $1,33\times10^{-7}$ $\pm9,44\times10^{-8}$ | $4,95\times10^{-8}$ $\pm5,73\times10^{-9}$ | $8,42\times10^{-8}$ $\pm1,03\times10^{-9}$ | $5,31\times10^{-8}$ $\pm8,83\times10^{-10}$ | $5,17\times10^{-8}$ $\pm1,03\times10^{-9}$ | $2,23\times10^{-8}$ $\pm5,02\times10^{-9}$ |
| 4 | $3,07\times10^{-7}$ $\pm 6,63\times10^{-8}$ | $2,04\times10^{-7}$ $\pm6,63\times10^{-8}$ | $1,11\times10^{-7}$ $\pm8,93\times10^{-8}$ | $8,71\times10^{-8}$ $\pm7,93\times10^{-9}$ | $3,70\times10^{-8}$ $\pm6,03\times10^{-9}$ | $4,68\times10^{-8}$ $\pm7,83\times10^{-9}$ | $2,00\times10^{-8}$ $\pm9,93\times10^{-10}$ | $4,61\times10^{-9}$ $\pm4,53\times10^{-11}$ |
| 5 | $2,62\times10^{-8}$ $\pm 8,20\times10^{-9}$ | $5,31\times10^{-8}$ $\pm4,03\times10^{-9}$ | $1,32\times10^{-8}$ $\pm0,20\times10^{-9}$ | $5,78\times10^{-8}$ $\pm7,77\times10^{-9}$ | $4,32\times10^{-10}$ $\pm0,44\times10^{-11}$ | 0 | $1,73\times10^{-9}$ $\pm0,55\times10^{-10}$ | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Сумма | $5,74\times10^{-7}$ $\pm 7,63\times10^{-9}$ | $4,37\times10^{-7}$ $\pm1,23\times10^{-8}$ | $2,71\times10^{-7}$ $\pm2,55\times10^{-8}$ | $2,03\times10^{-7}$ $\pm5,00\times10^{-8}$ | $1,38\times10^{-7}$ $\pm5,11\times10^{-8}$ | $1,05\times10^{-7}$ $\pm4,44\times10^{-8}$ | $7,35\times10^{-8}$ $\pm9,66\times10^{-9}$ | $3,14\times10^{-8}$ $\pm8,00\times10^{-9}$ |

По результатам проведенного анализа элюатов были определены количества винпоцетина на единицу объема пробы, внесенной в хроматографическую колонку (табл. 5).

Таблица 5. Результаты анализа элюатов по количеству винпоцетина на единицу объема пробы (моль/л)

| Номер колонки | Количество винпоцетина на единицу объема пробы, моль/л |
|---|---|
| 1 | $5,74\times10^{-4\pm}0,55\times10^{-5}$ |
| 2 | $4,37\times10^{-4\pm}3,44\times10^{-5}$ |
| 3 | $2,71\times10^{-4\pm}3,67\times10^{-5}$ |
| 4 | $2,03\times10^{-4}\pm7,20\times10^{-5}$ |
| 5 | $1,38\times10^{-4\pm}0,94\times10^{-5}$ |
| 6 | $1,05\times10^{-4\pm}2,03\times10^{-5}$ |
| 7 | $7,34893\times10^{-5\pm}6,08\times10^{-6}$ |
| 8 | $3,13664\times10^{-5\pm}1,44\times10^{-7}$ |

Полученные результаты позволяют оценить концентрацию винпоцетина в дисперсионной среде коллоидного раствора гидроксида железа (III) и рассчитать величину адсорбции препарата на поверхности частиц дисперсной фазы. В табл. 6 приведены результаты определения величины адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах.

Таблица 6. Результаты определения величины адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах гидроксида железа (III)

| Номер колонки / величина адсорбции | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|
| Концентрация винпоцетина в пробе по элюату (C), моль/л | 0,000138 | 0,000105 | $7,35\times10^{-5}$ | $3,14\times10^{-5}$ |
| Величина адсорбции винпоцетина на $Fe(OH)_3$ (A), моль/кг | 0,239823 | 0,182712 | 0,108317 | 0,094517 |
| logC | -3,86080 | -3,98001 | -4,13378 | -4,50354 |
| logA | -0,62011 | -0,73823 | -0,96530 | -1,02449 |
| 1/C | 7257,785 | 9550,089 | 13607,430 | 31881,270 |
| 1/A | 4,169739 | 5,473103 | 9,232158 | 10,58009 |

Для определения констант уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра [3] были определены константы a и b уравнений прямых для изотермы Фрейндлиха (рис. 1) и изотермы Ленгмюра (рис. 2). Уравнения прямых представлены на рис. 1 и 2 в форме:

$$y = ax + b \quad (3)$$

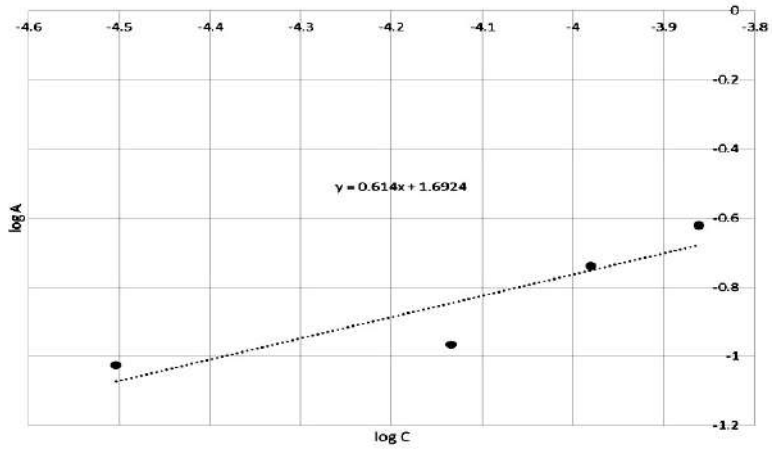



Рис. 1. Изотерма адсорбции Фрейндлиха

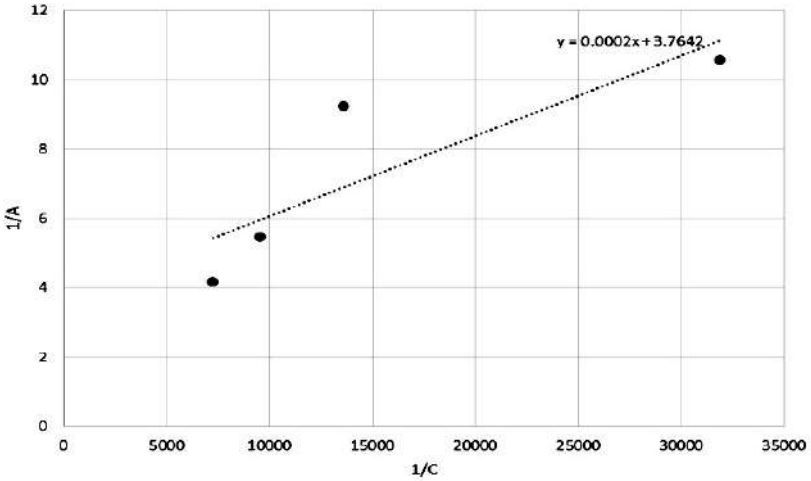



Рис. 2. Изотерма адсорбции Ленгмюра

Константу 1/n уравнения Фрейндлиха определяли как тангенс угла наклона прямой изотремы Фрейндлиха (константа a = 0,61401±0,20755 уравнения прямой). Константу k вычисляли как десятичный антилогарифм константы b = 1,69239±0,85646 изотермы Фрейндлиха.

Константа $k = 10^{(1,69239 \pm 0,85646)}$.

Для оценки погрешности коэффициента k использовали формулу, связывающей погрешность функции с погрешностью ее аргумента [8]:

$$\varepsilon_u = \left| \frac{df(x)}{dx} \right| \varepsilon_x$$

Для расчета коэффициента k использовали показательную функцию, таким образом, расчет погрешности данной константы выполняли по формуле:

$$\varepsilon_u = |10^x \ln(x)|\, \varepsilon_x = |10^{1,69239} \ln(1,69239)|\, 0,85646 = 22,19217$$

Таким образом, коэффициент равен k = 49,24816±22,19217 моль/кг.

Константу $A_\infty$ (предельная адсорбция) вычисляли как обратную величину константы b = 3,76425±1,84168 уравнения прямой изотермы адсорбции Ленгмюра.

Для оценки погрешности коэффициента $A_\infty$ использовали формулу, связывающую погрешность функции с погрешностью ее аргумента:

$$\varepsilon_y = \left|\frac{df(x)}{dx}\right| \varepsilon_x,$$

тогда погрешность $A_\infty = \left|-\frac{1}{b^2}\right| 1{,}84168 = \left|-\frac{1}{3{,}76425^2}\right| 1{,}84168 =$ 0,12997 моль/кг.

Предельная адсорбция $A_\infty$ = (1/3,76425)±0,12997 = 0,26566±0,12997 моль/кг.

Для определения константы b уравнения Ленгмюра определяли удвоенную величину обратной предельной адсорбции и соответствующую ей обратную величину константы b уравнения Ленгмюра.

Для определения константы b уравнения Ленгмюра величину $1/A_\infty$ удваивали:

$$2/A_\infty = 7{,}52850 \pm 3{,}68336$$

Далее определяли значение обратной концентрации, соответствующее данной удвоенной величине. Для этого использовано уравнение линейной регрессии для зависимости:

$$1/C = (3140{,}895463 \pm 1364{,}65223) \times 1/A + (-7554{,}69619 \pm 10669{,}46466)$$

$$1/b = (3140{,}895463 \pm 1364{,}65223) \times 2/A_\infty + (-7554{,}69619 \pm 10669{,}46466)$$

Т.к. относительная погрешность произведения равна сумме относительных погрешностей сомножителей, а абсолютная погрешность суммы равна сумме абсолютных погрешностей ее компонентов, то:

$$1/b = 16091{,}5353 \pm 32512{,}2977$$

$$b = 1/(16091{,}5353 \pm 32512{,}2977) = 1/16091{,}5353 \pm \left|-\frac{1}{16091{,}5353^2}\right| 32512{,}2977 = = 6{,}21445 \times 10^{-5} \pm 12{,}556 \times 10^{-5}$$ моль/л

Далее вычисляли константу b уравнения Ленгмюра (табл. 7) [4].

Таблица 7. Значения констант уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра определенные по результатам эксперимента

| Уравнения | Константа | Адсорбент сравнения | Липосомы винпоцетина |
|---|---|---|---|
| Уравнение Фрейндлиха | 1/n | 0,61401±0,20755 | 0,505919±0,108038364 |
| | k, моль/кг | 49,24816±22,19217 | 3,615507457±1,163161619 |
| Уравнение Ленгмюра | $A_\infty$, моль/кг | 0,26566±0,12997 | 0,0122987±0,005485 |
| | b, моль/л | $6{,}21445 \times 10^{-5} \pm 12{,}556 \times 10^{-5}$ | $4{,}08717 \times 10^{-6} \pm 6{,}74916 \times 10^{-6}$ |

Полученные результаты могут быть использованы для оценки различных критериев эффективности адсорбции винпоцетина на липосомах в сравнении с коллоидными частицами золя гидроксида железа (III).

## Заключение

Предельная адсорбция винпоцетина на липосомах значительно ниже таковой адсорбции винпоцетина на коллоидных частицах золя гидроксида железа (III). Константа b уравнения Ленгмюра (концентрация, при которой достигается половина предельной адсорбции) меньше по сравнению с таковой адсорбции на частицах золя гидроксида железа (III), что свидетельствует о достаточно эффективной адсорбции винпоцетина липосомами при низкой концентрации.

## Литература (references)

1. Адамсон А. // Физическая химия поверхностей. – М.: Мир, 1979. – 564 с. [Adamson A. // *Fizicheskaya himiya poverhnostej*. Physical chemistry of surfaces. – Moscow: Mir, 1979. – 564 p. (in Russian)]

2. Боева С.А., Дзюба В.Ф., Сливкин А.И. и др. Валидация УФ-спектрофотометрической методики количественного определения винпоцетина в суппозиториях // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – №2. – С. 157-160. [Boeva S.A., Dzyuba V.F., Slivkin A.I. et al. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Chimija. Biologija. Farmacija.* Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2009. – N2. – P. 157-160. (in Russian)]
3. Костин К.В., Игнатьева Е.В., Тазина Е.В. и др. Технология получения и анализ лекарственной формы лизомустина // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – №7. – С. 44-47. [Kostin K.V., Ignatieva E.V., Tazina E.V. et al. *Himiko-farmacevticheskij zhurnal*. Chemical Pharmaceutical Journal. – 2011. – N7. – P. 44-47. (in Russian)]
4. Полковникова Ю.А. Изучение адсорбции винпоцетина на поверхности липосом, полученных из соевого лецитина / Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т.55, №7. – С. 39-42. [Polkovnikova Yu.A. *Chimiko-farmacevticheskij zhurnal.* Chemical Pharmaceutical Journal. – 2021. – V.55, N 7. – P. 39-42 (in Russian)]
5. Полковникова Ю.А. Определение степени включения циннаризина в липосомы из соевого лецитина / Химико-фармацевтический журнал. – 2022. – Т.56, №10. – С. 44-47. [Polkovnikova Yu.A. *Chimiko-farmacevticheskij zhurnal.* Chemical Pharmaceutical Journal. – 2022. – V.56, N10. – P. 44-47 (in Russian)]
6. Рудаков О.Б., Востров И.А. Спутник хроматографиста. – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с. [Rudakov O.B., Vostrov I.A. *Sputnik hromatografista*. Chromatographer's Companion. – Voronezh: Aquarius, 2004. – 528 p. (in Russian)]
7. Сариев А.К., Абаимов Д.А., Сейфулла Р.Д. Проблема повышения биодоступности лекарственных средств методами нанофармакологии: фармакокинетика липосомальных препаратов / Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – № 11. – С. 34-38. [Sariev A.K., Abaimov D.A., Seifulla R.D. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. Experimental and clinical pharmacology– 2010. – N11. – P. 34-38. (in Russian)]
8. Формалев В.Ф., Ревизников Д.Л. Численные методы. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004. – 400 с. [Formalev V.F., Reviznikov D.L. *CHislennye metody.* Numerical methods. – M.: FIZMATLIT, 2004. – 400 p. (in Russian)]
9. Hou G., Niu J., Song F., Liu Z., Liu S. Studies on the interactions between ginsenosides and liposome by equilibrium dialysis combined with ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Journal of Chromatography B. – 2013. – V.923-924. – P. 17.
10. Sharma A. Equilibrium dialysis studies on the binding of anionic surfactants with bovine milk casein // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2012. – V.2, N1. – P. 102-105.

**Информация об авторе**

*Полковникова Юлия Александровна* – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежской государственный университет». E-mail: juli-polk@mail.ru

**Конфликт интересов**: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.08.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 615.451.2* 3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.24 EDN: VNJYBI*

# ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СИРОПА АЗОКСИМЕРА БРОМИДА

**© Хамидов М-Э.Х.[1], Огай М.А.[1], Лосенкова С.О.[2], Абисалова И.Л.[1]**

*[1]Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, Россия, 357532, Пятигорск, проспект Калинина, 11*

*[2]Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Изучение фармакологической активности азоксимера бромида в составе разработанного авторами лекарственного сиропа в сравнении с таблетированной лекарственной формой азоксимера бромида на модели дексаметазоновой иммуносупрессии.

**Методика.** Для создания модели иммуносупрессии применяли дексаметазон (АО «ПФК Обновление», Россия) внутрибрюшинно в дозе 40 мг/кг в течение 5 дней. С терапевтической целью крысам-самцам вводили перорально 0,1% лекарственный сироп азоксимера бромида в дозе 2 мг/кг веса животного в течение 7 дней. Животные группы сравнения получали измельченную таблетированную форму азоксимера бромида в дозе 2мг/кг также в течение 7 дней. После эвтаназии животного под наркозом (хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг) осуществляли забор венозной крови из правой половины сердца, извлекали органы иммунной системы тимус, селезенку, надпочечники. Для гистологических исследований срезы органов крыс были изготовлены с помощью санного микротома. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета Statistica 10. Значимость различий медиан по группам рассчитывали по критерию Манна-Уитни.

**Результаты.** По результатам сравнительных фармакологических исследований установили, что лекарственная форма «сироп азоксимера бромида 0,1%» в дозе 2 мг/кг веса крысы обладает иммуномодулирующим действием на модели дексаметазоновой иммуносупрессии, сопоставимым с действием лекарственной формы «таблетки азоксимера бромида 12мг» в дозе 2 мг/кг.

**Заключение.** Терапевтическое введение сиропа азоксимера бромида 0,1% в дозе 2 мг/кг веса крысы в течение 7 дней способствовало улучшению показателей крови, приближая их к значениям интактной группы. Гистологические исследования тимуса, селезенки и надпочечников животных из групп тестируемых лекарственных форм (сироп и таблетки) патологических изменений не выявили.

*Ключевые слова:* азоксимера бромид, сироп, таблетки, интактная группа, дексаметазоновая иммуносупрессия

# PHARMACOLOGICAL STUDIES OF AZOXIMER BROMIDE SYRUP

Khamidov M-E.Kh.[1], Ogai M.A.[1], Losenkova S.O.[2], Abisalova I.L.[1]

*[1] Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of the Volgograd State Medical University 357532, Pyatigorsk, Russia*

*[2] Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To study the pharmacological activity of azoximer bromide in the composition of the drug syrup developed by the authors in comparison with the dosage form of the tablet azoximer bromide in a model of dexamethasone immunosuppression.

**Methods.** To create a model of immunosuppression, dexamethasone (JSC "PFC Obnovleniye", Russia) was used intraperitoneally at a dose of 40 mg/kg for 5 days. For therapeutic purposes, male rats were administered orally at a dose of 2 mg/kg body weight for 7 days with 0.1% drug syrup azoximer bromide. Animals in the comparison group received a crushed tablet form of azoximer bromide at a dose of 2 mg/kg also for 7 days. After euthanasia of the animal under anesthesia (chloral hydrate at a dose of 300 mg/kg), venous blood was taken from the right side of the heart, the organs of the immune system were extracted: thymus, spleen, adrenal glands. For histological studies, sections of rat organs were made using

a sled microtome. Statistical processing of the results was carried out using the Statistica 10 package. The significance of differences in medians across groups was calculated using the Mann-Whitney test.

**Results** Based on the results of comparative pharmacological studies, it was found that the dosage form "azoximer bromide syrup 0.1%" at a dose of 2 mg/kg of rat weight has an immunomodulatory effect in the model of dexamethasone immunosuppression, comparable to the effect of the dosage form "azoximer bromide tablets 12 mg" at a dose of 2 mg/kg.

**Conclusion.** Therapeutic administration of azoximer bromide syrup 0.1% at a dose of 2 mg/kg of rat weight for 7 days contributed to the improvement of blood parameters, bringing them closer to the values of the intact group. Histological studies of the thymus, spleen and adrenal glands of animals from the groups of tested dosage forms (syrup and tablets) did not reveal pathological changes.

*Keywords:* azoximer bromide, syrup, tablets, intact group, dexamethasone immunosuppression

## Введение

Азоксимера бромид относится к классу водорастворимых производных гетероцепных алифатических полиаминов. Данный класс соединений не имеет аналогов как по структуре, так и по свойствам. Наличие в основной цепи макромолекулы третичного атома азота открывает практически неограниченные возможности получения модификатов с широким спектром физико-химических, физиологических и фармакологических свойств [1, 3, 5]. Варьирование химического строения гетероцепного полиамина, а также химического строения модифицирующих агентов и степени модификации полиамина позволяет регулировать в широких пределах указанные выше свойства [4, 6]. Азоксимера бромид обладает многоцелевым терапевтическим действием: иммуномодулирующим, дезинтоксикационным, антиоксидантным и мембранопротекторным эффектами. При этом молекула препарата не имеет чужеродной антигенной нагрузки [2]. В настоящее время доступны три лекарственные формы препарата: лиофилизат для приготовления раствора для инъекций и местного применения, суппозитории и таблетки. Наличие корригированной жидкой лекарственной формы, в том числе сиропа – не выявлено.

Цель исследования – изучить фармакологическую активность азоксимера бромида в составе разработанного авторами лекарственного сиропа в сравнении с таблетированной лекарственной формой азоксимера бромида на модели дексаметазоновой иммуносупрессии.

## Методика

Работа выполнена на 40 беспородных крысах самцах с массой 250-300 грамм (n=10 каждая группа). Животные были получены из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская обл.). Перед непосредственным проведением эксперимента животные помещались в карантинное отделение на 14 дней. Во время исследования животные содержались в контролируемых условиях вивария при температуре воздуха 22±2$^0$С, относительной влажности 60±5% и 12-ти часовой смене суточного цикла в макролоновых клетках по 5 особей. Доступ к корму и воде не ограничивали. Биометодология и содержание животных соответствовали международным этическим нормам обращения с лабораторными животными (Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes, September 22, 2010).Для создания модели иммуносупрессии применяли дексаметазон (АО «ПФК Обновление», Россия) в дозе 40 мг/кг в течении 5 суток внутрибрюшинно [7]. Тестируемый препарат 0,1% сироп азоксимера бромида и препарат сравнения таблетки азоксимера бромида вводили интрагастрально через зонд на 6-е сутки с момента введения дексаметазона в течении 7 дней. Для определения экспериментальной дозы использовали максимальную суточную дозу препаратов на основе азоксимера бромида, рекомендуемую для клинического применения 12 мг/кг (на человека) и 2 мг/кг (на крысу с учетом коэффициента пересчета – 6) («НПО Петровакс Фарм», Россия) [8]. Исследуемый препарат вводили из расчёта 0,4 мл сиропа на крысу массой 200 грамм. Препарат сравнения вводили из расчёта 0,4 мг на крысу массой 200 грамм в виде водной суспензии приготовленной на воде очищенной с содержанием действующего вещества 1,2 мг/мл. На 14-й день эксперимента под хлоралгидратным наркозом (внутрибрюшинно в дозе 300 мг/кг) проводили декапитацию животных. Использовали кристаллический порошок хлоралгидрата 98,5% (Jersey, USA:1-800-ACROS-01), который предварительно растворяли в воде очищенной из расчёта 120 мг/мл раствора, что составило 0,5 мл на крысу массой 200 грамм. При манипуляциях с лабораторными животными руководствовались Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 №81 «Об утверждении

Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения ЛС». Для исследования осуществляли забор венозной крови из правой половины сердца (пункцию сердца осуществляли при помощи вакуумных пробирок BD Vacutainer), извлекали органы: тимус, селезенку, надпочечники. Кровь анализировали на гематологическом анализаторе «MindrayBC-2800Vet». Извлеченные органы взвешивали, фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали парафином. Срезы органов и тканей были изготовлены с помощью санного микротома (окраска гематоксилин-эозином). Морфометрическое исследование проводилось с использованием инструментов программного обеспечения "LeicaApplicationSuite".

## Результаты исследования и их обсуждение

Результаты по изучению картины крови. Глюкокортикоиды оказывают выраженное воздействие на кроветворные органы, в частности на созревание и жизнедеятельность клеточных элементов кроветворной системы и крови. Введение глюкокортикоидных препаратов в организм приводит к инволюции тимуса и лимфатической ткани, понижению количества лимфоцитов в периферической крови. Это является следствием снижения их выработки и повышенным распадом на периферии [9]. Дексаметазоновая модель иммуносупрессии вызывает снижение уровня лимфоцитов, моноцитов с одновременным развитием лейкоцитоза за счет повышения гранулоцитов.

Влияние 7-ми дневного применения 0,1% сиропа азоксимера бромида на картину крови крыс с дексаметазоновой иммуносупрессией (медиана $M_e$; нижний и верхний квартили [$Q_1$; $Q_2$.]) представлен в табл. 1.

Таблица 1. Результаты исследования влияния 7-ми дневного применения 0,1% сиропа азоксимера бромида на картину крови крыс с дексаметазоновой иммуносупрессией

| Показатели | Интактные | Контроль | Сироп азоксимера бромида 0,1% | Таблетки азоксимера бромида |
|---|---|---|---|---|
| Лейкоциты, $10^9$/л | 9,9<br>[9,1; 11,9] | 18,0<br>[16,5; 25,4]<br>$p_1$<0,05 | 12,1<br>[11,2; 14,7]<br>$p_1$<0,05, $p_2$<0,05 | 14,1<br>[12.2; 15,2]<br>$p_1$<0,05, $p_2$<0,05 |
| Лимфоциты,% | 43,55<br>[27,9; 43,8] | 21,45<br>[16,8; 25,4]<br>$p_1$<0,05 | 45,55<br>[31,7; 45,8]<br>$p_1$>0,05, $p_2$<0,05 | 29,5<br>[26.9; 35,1]<br>$p_1$>0,05, $p_2$<0,05 |
| Гранулоциты,% | 54,45<br>[49,2; 66,2] | 96,60<br>[84,7; 99,2]<br>$p_1$<0,05 | 68,55<br>[64,2; 80,3]<br>$p_1$<0,05, $p_2$<0,05 | 68,05<br>[60; 69,7]<br>$p_1$<0,05, $p_2$<0,05 |
| Моноциты,% | 2,45<br>[2,1; 2,9] | 1,95<br>[1,6; 2,3]<br>$p_1$<0,05 | 2,3<br>[2,1; 2,7]<br>$p_1$>0,05, $p_2$<0,05 | 2,7<br>[2,3; 2,9]<br>$p_1$>0,05, $p_2$<0,05 |
| Эритроциты,$10^{12}$/л | 8,27<br>[8,03; 8,6] | 8,55<br>[8,25; 8,93] | 8,40<br>[8,05; 8,71] | 7,53<br>[7,23; 8,03]<br>$p_1$<0,05, $p_1$<0,05 |
| Гемоглобин, г/л | 160,5<br>[151,0; 167,0] | 164,5<br>[157,0; 173,0] | 161,5<br>[156,0; 167,0] | 143,5<br>[137,0; 149,0] |
| Тромбоциты,$10^9$/л | 625,0<br>[594,0; 689,0] | 652,0±77,0<br>[625; 702] | 636,5±64,0<br>[625,0; 689,0] | 572,0<br>[247,0; 648,0] |

Примечание: $p_1$– уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; $p_2$– уровень статистической значимости по отношению к группе контроля

Из приведенных данных видно, что у животных контрольной группы на фоне введения дексаметазона на 82% достоверно повышается уровень лейкоцитов, на 51% снижается содержание лимфоцитов и на 20% моноцитов, при этом содержание гранулоцитов достоверно выше на 77% по сравнению с группой интактных животных. В группе животных с дексаметазоновой моделью и леченных сиропом азоксимера бромида 0,1% лейкоцитоз менее выражен, содержание лейкоцитов повышалось на 22% относительно интактной группы и на 33% снижалось относительно контрольной группы. Лимфоцитопения не развивалась, отличия не достоверны относительно значений интактной группы крыс. Содержание моноцитов снижалось на

6% по отношению к интактной группе и на 17% повышалось по отношению к показателем контрольной группы крыс. Содержание гранулоцитов на 26% выше показателей интактной группы и 29% меньше чем в контрольной группе. В группе крыс, получавших препарат сравнения – таблетки азоксимера бромида, показатели крови были сопоставимы с результатами группы исследуемой лекарственной формы сироп азоксимера бромида 0,1%. Содержание лейкоцитов повышалось на 38% относительно интактной группы и на 32% снижалось относительно контрольной группы. Содержание лимфоцитов повышалось на 37% относительно контрольной группы, моноцитопения не проявлялась (отличия не достоверны относительно интактной группы). Гранулоцитоз менее выражен, содержание гранулоцитов увеличивалось на 25% относительно интактной группы и на 30% меньше чем в контрольной группе.

Результаты по изучению органов иммунной системы. При воздействии факторов, подавляющих иммунные реакции в органах иммунной системы возможно развитие гипотрофии и гипоплазии, с уменьшением объема клеток и межклеточных структур и дальнейшем развитием атрофии органа. Результаты исследования влияния 7-ми дневного применения 0,1% сиропа азоксимера бромида на массу и весовые индексы отдельных органов крыс с дексаметазоновой иммуносупрессией (медиана $M_e$; нижний и верхний квартили [$Q_1$; $Q_2$]) представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты исследования влияния 7-ми дневного применения 0,1% сиропа азоксимера бромида на массу и весовые индексы отдельных органов крыс с дексаметазоновой иммуносупрессией

| Группа | Селезенка | Тимус | Правый надпочечник | Левый надпочечник |
|---|---|---|---|---|
| Интактные (масса органа, г индекс массы, %) | 1,0286 [0,795; 1,350] | 0,264 [0,25; 0,30] | 0,014 [0,012; 0,017] | 0,017 [0,012; 0,019] |
| | 0,366 [0,324; 0,466] | 0,099 [0,086; 0,105] | 0,051 [0,0046; 0,0064] | 0,0633 [0,0045; 0,0071] |
| Контроль (масса органа, г индекс массы, %) | 1,0425 [0,9; 1,108] | 0,172 [0,155; 0,212], $p_1$<0,05 | 0,0130 [0,011; 0,019] | 0,0140 [0,012; 0,018] |
| | 0,3736 [0,3422; 0,41699] | 0,0647 [0,0572; 0,0779] | 0,00474 [0,0039; 0,00699] | 0,00517 [0,0045; 0,0073] |
| Сироп азоксимера бромида 0,1% (масса органа, г индекс массы, %) | 0,76 [0,712; 0,90] | 0,231 [0,215; 0,249] | 0,017 [0,015; 0,028] | 0,021 [0,015; 0,028] |
| | 0,366 [0,336; 0,443] | 0,108 [0,100; 0,117] | 0,0813 [0,0074; 0,0126] | 0,0096 [0,0075; 0,0122] |
| Таблетки азоксимера бромида (масса органа, г индекс массы, %) | 1,0335 [0,951; 1,117] | 0,278 [0,218; 0,3] | 0,037 [0,028; 0,037] | 0,037 [0,028; 0,037] |
| | 0,4785 [0,419; 0,589] | 0,1249 [0,092; 0,1572] | 0,0162 [0,0089; 0,0210] | 0,0162 [0,0089; 0,0210] |

Примечание: $p_1$– уровень статистической значимости по отношению к интактным животным

Изучение массы и весовых индексов селезенки, тимуса и надпочечников у животных с дексаметазоновой иммуносупрессией достоверных отличий с интактной группой крыс не выявило. Исключение составили данные по массе тимуса в контрольной группе, зафиксировано достоверное уменьшение массы данного органа на 35% относительно интактной группы крыс ($p_1$<0,05).

Результаты по изучению гистологической картины тимуса, селезенки и надпочечников. На гистологических срезах селезенки интактной группы крыс отчетливо просматриваются все анатомо-морфологические структуры. Селезенка покрыта капсулой, плотно прилегающей к поверхности паренхимы органа. От нее внутрь идут трабекулы в различных направлениях. Синусоиды красной пульпы спавшиеся, так как в процессе приготовления и фиксации препарата селезенка не была специально растянута. Сосуды селезенки умеренно наполнены кровью. Фолликулы белой пульпы в виде округлых и овальных образований разбросаны среди ткани красной пульпы и достаточно четко отграничены. Средний размер фолликулов белой пульпы составляет 3,43±0,17 отн. ед., представлен на рис. 1А.

В группе контрольных крыс картина гистологических срезов в целом напоминала описанную выше. Наблюдалось уменьшение среднего размера фолликулов белой пульпы до 2,82±0,15 отн. ед,

что может свидетельствовать о снижении активности иммунологических реакций лимфоцитов, представлен на рис. 1Б.

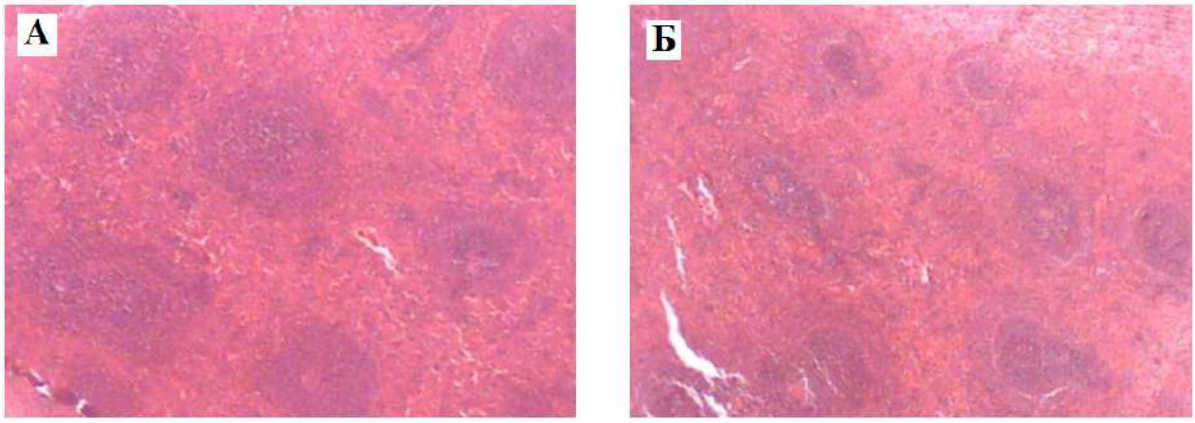



Рис. 1. Селезенка интактной крысы (А), крысы контрольной группы (Б) (×40, окуляр К7$^{x}$)

В группе крыс с дексаметазоновой иммуносупрессией на фоне применения сиропа азоксимера бромида 0,1%, картина гистологических срезов в целом приближалась к интактной группе. Значительных изменений размеров фолликулов белой пульпы не наблюдалось. Морфометрическое исследование показало, что средний размер фолликулов белой пульпы составил 3,02±0,14 отн. ед., представлен на рис. 2А.

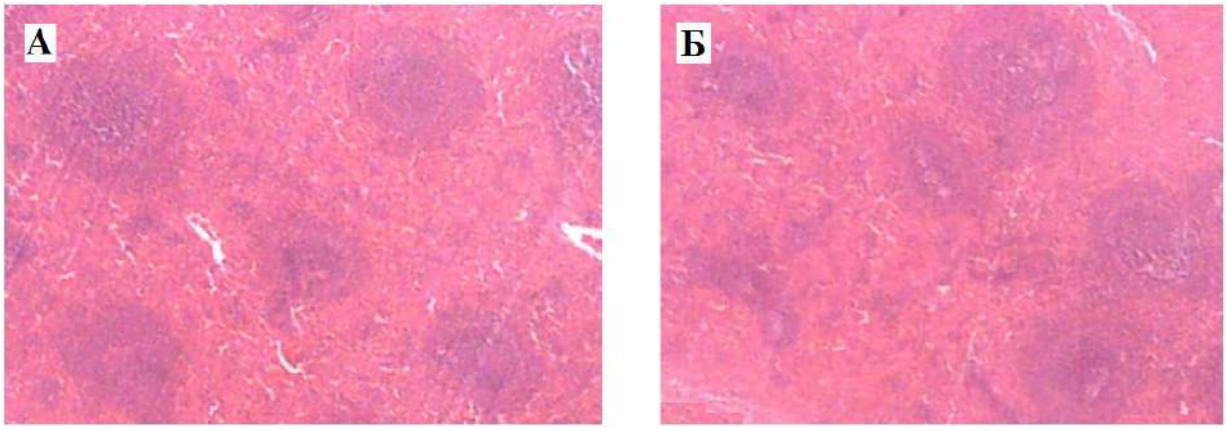



Рис. 2. Селезенка крыс, получавших 0,1% сиропа азоксимера бромида (А), получавших азоксимера бромид (полиоксидоний) таблетки (Б) (×40, окуляр К7$^{x}$)

В группе животных, получавших в качестве лечения таблетки азоксимера бромида, гистологическая картина селезенки в целом напоминала вышеописанную. Средний размер фолликулов белой пульпы составил 3,17±0,16 отн. Ед., представлен на рис. 2Б.

На гистологических срезах тимуса интактных крыс хорошо различимы корковый и мозговой слой долек. В наружном субкапсулярном слое различимы более крупные клетки-лимфобласты. В корковом слое определялись отростчатые эпителиальные клетки (клетки-кормилицы), окруженные большим количеством малых лимфоцитов. В мозговом слое также присутствовали эпителиальные отростчатые клетки, окруженные лимфоцитами средних размеров, а также тельца Гассаля, представлены на рис. 3А.

На гистологических срезах тимуса животных контрольнойгруппы наблюдалось выраженное дольчатое строение. В каждой дольке различаются корковый и мозговой слои. Корковый слой окрашен более интенсивно базофильными красителями. Мозговой слой светлый, более эозинофильный. В мозговом веществе определяются специфические для тимуса слоистые эпителиальные образования – тельца Гассаля, клеточная плотность незначительно снижена, представлена на рис. 3Б.

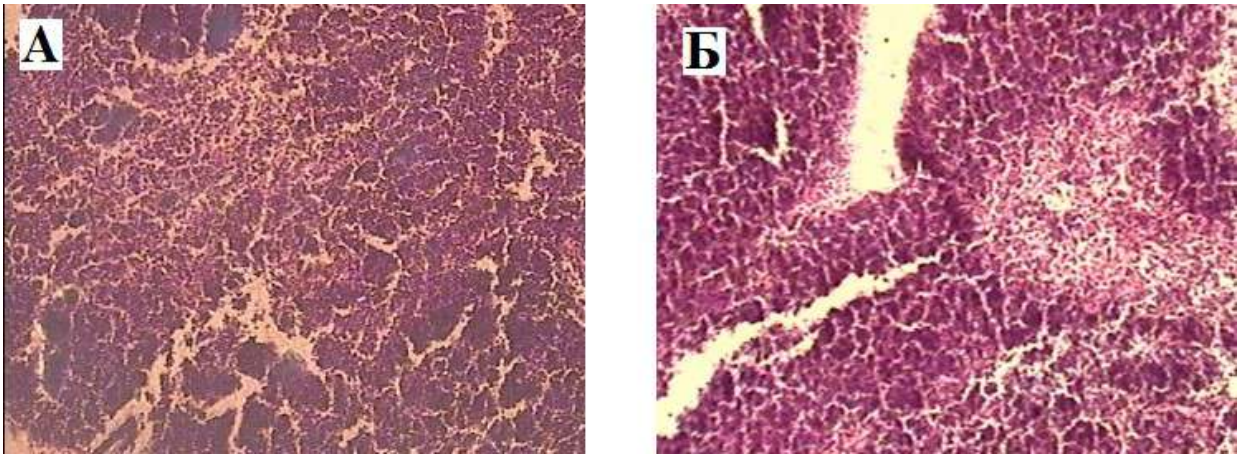



Рис. 3. Гистологический срез тимуса интактных крыс (А), контрольной группы крыс Б) (×40, окуляр К7$^{x}$)

На гистологических срезах тимуса животных из группы, получавшей сироп азоксимера бромида 0,1%, гистологическая картина аналогична группе интактных крыс. Тимус имеет дольчатое строение. В каждой дольке отчетливо различаются корковый и мозговой слой. Корковый слой окрашен более интенсивно базофильными красителями. Мозговой слой светлый, более эозинофилен. Дольки отграничены друг от друга соединительнотканными прослойками. Как в корковом, так и в мозговом веществе определяются крупные эпителиальные клетки отростчатой формы, вокруг которых располагаются ассоциированные с ними лимфоциты различной степени зрелости. В корковом слое располагаются преимущественно малые лимфоциты, а в мозговом средних размеров. В мозговом веществе определяются специфические для тимуса слоистые эпителиальные образования-тельца Гассаля, представлены на рис. 4А.

На гистологических срезах тимуса животных из группы, получавшей таблетки азоксимера бромида гистологическая картина аналогична вышеописанной, представлена на рис. 4Б.

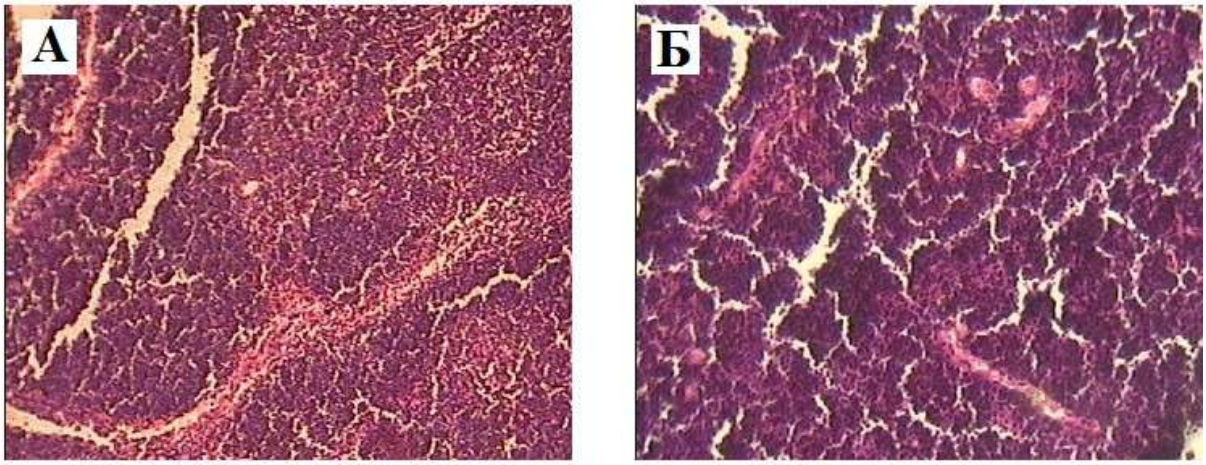



Рис. 4. Гистологический срез тимуса крысы из группы, получавшей сироп азоксимера бромида 0,1% (А), крысы из группы, получавшей таблетки азоксимера бромида (Б) (×40, окуляр К7$^{x}$)

На гистологических срезах интактной группы хорошо различимы капсула надпочечников, клубочковая, пучковая и сетчатая зона коры, хромафинные клетки мозгового вещества. Окраска зон равномерная по всем полям. Капсула плотно прилегает к пучковой зоне по всей поверхности. Клетки клубочковой зоны формируют округлые скопления. В клетках содержится не большое количество липидов. Клетки пучковой и сетчатой зоны более крупные, плотно прилегают друг к другу, располагаются радиальными пучками от цента к периферии. В цитоплазме клеток большое количество липидов. Тяжи клеток перемежаются с капиллярами и тонкими веретенообразными эндотелиоцитами. Мозговое вещество представлено крупными клетками округлой формы, между которыми располагаются сосуды. Полости сосудов содержат эритроциты. Цитоплазма клеток

мозгового вещества заполнена плотными мелкими гранулами. Различаются светлые и темные клетки. Ядра округлой формы расположены в центральной зоне цитоплазмы, представлены на рис. 5А.

Гистологическая картина срезов надпочечников в группе контрольных животных сохранена. На срезах все зоны хорошо различимы. В цитоплазме клеток клубочковой зоны небольшое содержание липидов. Ядра располагаются в центральной зоне цитоплазмы. Размеры клеток во всех зонах коры надпочечников и мозгового слоя соответствуют размеру клеток в контроле. В клетках пучковой и сетчатой зоны содержится большое количество липидных капель. Клетки мозгового вещества более крупные. Различаются темные и светлые клетки. Патологических изменений не обнаружено, представлены на рис. 5Б.

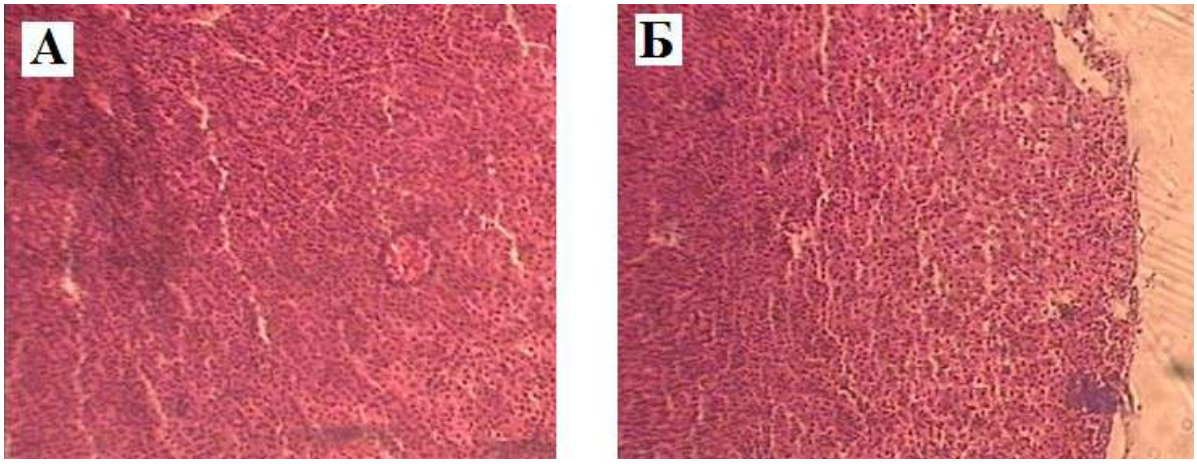



Рис. 5. Гистологический срез надпочечника интактной крысы (А), контрольной группы крыс (×40, окуляр К7$^{x}$)

На гистологичесих срезах надпочечников группы животных получавших сироп азоксимера бромида 0,1% все слои коркового вещества надпочечников ясно различимы. Клетки клубочкового, пучкового и сетчатого слоев плотно прилегают друг к другу. В клетках пучковой и сетчатой зоны содержится большое количество липидных капель. Признаков воспалительных, дистрофических, некротических, склеротических и других патологических процессов не обнаружено, представлено на рис. 6А.

На гистологических срезах надпочечников группы, получавшей таблетки азоксимера бромида гистологическая картина аналогична вышеописанной, патологический изменений не выявлено, представлена на рис. 6Б.

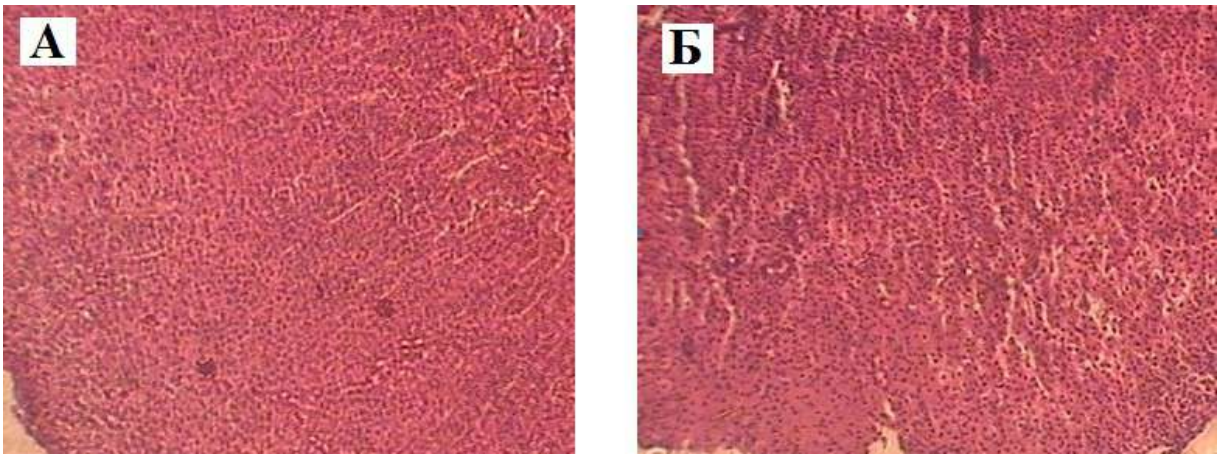



Рис. 6. Гистологический срез надпочечника крысы из группы, получавшей сироп азоксимера бромида 0,1% (А), из группы, получавшей таблетки азоксимера бромида (Б) (×40, окуляр К7$^{x}$)

## Заключение

Исследования показали, что при моделировании дексаметазоновой иммуносупрессии наблюдались изменения со стороны картины крови, которые проявлялись лейкоцитозом, за счет значительного повышения зернистых лейкоцитов, а также лимфоцито- и моноцитопенией. Терапевтическое введение азоксимера бромида в составе сиропа в дозе 2 мг/кг веса животного в течение 7 дней способствовало улучшению показателей крови, приближая их к значениям интактной группы (группа биологического контроля). Эффекты, полученные при введении сиропа азоксимера бромида 0,1% в дозе 2 мг/кг сопоставимы с эффектами от введения азоксимера бромида в составе таблетированной лекарственной формы в дозе 2 мг/кг. Гистологические исследования тимуса, селезенки и надпочечников животных из групп тестируемых лекарственных форм патологических изменений не выявили. Однако, в контрольной группе было установлено достоверное, относительно интактной группы, снижение массы и незначительное снижение клеточной плотности в тимусе. Полученные данные указывают, что лекарственная форма «сироп азоксимера бромида 0,1%» в дозе 2 мг/кг обладает иммуномодулирующим действием на модели дексаметазоновой иммуносупрессии, сопоставимым с действием лекарственной формы «таблетки азоксимера бромида 12мг» в дозе 2 мг/кг.

## Литература (references)


1. Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. Регуляторная роль иммунной системы в организме // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т.96, №8. – С. 787-805. [Alekseev L.P., KhaitovR.M. *Rosjjskij fiziologicheskij zhurnalimeni.* Russian Journal of Physiology. – 2010. – V.96, N8. – P. 787-805. (in Russian)]
2. Богачева Н.В., Тунева Н.А., Смирнов А.А. и др. Разработка биологической модели иммуносупрессии при помощи дексаметазона // Вятский медицинский вестник. – 2018. – №4(60). – С. 39-43. [Bogacheva N.V., Tuneva N.A., Smirnov A.A. et all. *Opracowanie biologicznego modelu immunosupresji przy użyciu deksametazonu.* Biuletyn Medyczny Vyatka. – 2018. – N4(60). – P. 39-43. (in Russian)]
3. Булгакова В.А., Балаболкин И.И. Иммунофармакотерпия детей с аллергическими болезнями // Педиатрическая фармакология. – 2006. – Т.3, №5. – С. 22-29. [BulgakovaV.A., Balabolkin I.I. *Pediatricheskaij farmakologija.* Pediatric pharmacology. – 2006. – V3, N5. – P. 22-29. (in Russian)]
4. Караулов А.В. Иммуномодуляторы: о тпрошлого к будущему // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – №27. – С. 4-5. [Karaulov A.V. *Effectivnaja farmakoterapija.* Effective pharmacotherapy. – 2013. – N27. – P. 4-5. (in Russian)]
5. Латышева Т.В., Сетдикова Н.Х. Эффективность иммуномодулирующей терапии у больных ХНЗЛ // Лечащий Врач. – 2000. – N3. – P. 19-22. [Latysheva T.V., Setdikova N.Kh. *Lechachijvrach*. – 2000. – N3. – P. 19-22. (in Russian)]
6. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М. Иммуномодулятор Полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление. – 2004. – V.3, №3 – С. 41-47. [Pinegin B.V., Nekrasov A.V., Khaitov R.M. *Cytokiny i vospalenie.* Cytokin esandinflammation. – 2004. – V.3, N3. – P. 41-47. (in Russian)]
7. Шувалова Ю.В., Ахвердиева Т.Б., Герасимова Н.Г. и др. Клинико-лабораторная эффективность полиоксидония в комплексной терапии синдрома рецидивирующей бронхиальной обструкции у детей // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – №2. – С. 90. [Shuvalova Yu.V., Akhverdieva T.B., Gerasimova N.G. et all. *Sovremennije probleminauki i obrazovanija.* Modern Problems of Science and Education. – 2013. – N2. – P. 90. (in Russian)]
8. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. - М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. [Mironow A.N. *Rucovodstvo po provedeniju doclinicheskich issledovanij lekarstvennich sredstv.* Guidelines for Preclinical Studies of Medicinal Products. – M.: Grif i K, 2012. - 944 p. (in Russian)]
9. NHLBI/WHO Workshop Report: Global Strategyfor Asthma Managementarid Prevention. NIH Publicatios № 02-3659. February. – 2002. – P. 1-177.

**Информация об авторах**

*Хамидов Магомед-Эми Хусейнович* – соискатель кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: magomedemik@bk.ru

*Огай Марина Алексеевна* – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: marinfarm@yandex.ru

*Лосенкова Светлана Олеговна* – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: losenkova-so@mail.ru

*Абисалова Ирина Леонидовна* - кандидат фармацевтических наук, заведующая кафедрой патологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: iraabi@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.10.2023

Принята к печати 08.12.2023

*УДК 615.099.07* 3.4.1 Промышленная фармация и технология получения лекарств

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.25 EDN: VVXYHF*

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИЗОЛИРОВАНИЯ КАРБАМАЗЕПИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

**© Хабиева Н.А.[1], Люст Е.Н.[2], Тимерзянов М.И.[1]**

[1]*Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы Министерства Здравоохранения, Россия, Республики Татарстан, 420029, Казань, Сибирский тракт, 31А*

[2]*Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия, 614990, Пермь, ул. Екатерининская, 101*

*Резюме*

**Цель.** Разработать методики изолирования карбамазепина из биологических жидкостей (кровь, моча) и биологических тканей (печень, почка).

**Методика.** Для изучения экстракции карбамазепина из водных растворов применяли метод жидкость-жидкостной экстракции на стандартных растворах карбамазепина с концентрацией 10 мкг/мл. В качестве экстрагентов использовали органические растворители: гексан, хлороформ, диэтиловый эфир, метилтретбутиловый эфир, этилацетат, смесь хлороформ-пропанол-1 (9:1), экстракцию осуществляли из щелочной среды (pH 9-10). Эксперимент по разработке методики изолирования карбамазепина из крови и мочи проводили с использованием модельных смесей мочи и крови с концентрацией карбамазепина 1, 10, 100 мкг/мл. В качестве экстрагентов были апробированы хлороформ и метилтретбутиловый эфир, pH 9-10. При изучении условий изолирования карбамазепина из тканей внутренних органов для приготовления модельных смесей использовали печень и почки интактных лабораторных животных (крыс). Для приготовления модельных смесей биологический образец гомогенизировали в дистиллированной воде (1:4) с помощью ультразвукового гомогенизатора. К 10 г гомогената ткани добавляли 250, 500, 1000 мкл водного раствора карбамазепина с концентрацией 100 мкг/мл (вносимое количество – 25, 50, 100 мкг). Для извлечения целевого вещества из гомогената ткани апробированы подкисленные до pH 2 вода и ацетонитрил. Далее экстракцию проводили органическим растворителем (хлороформ, метилтретбутиловый эфир). Количественное определение карбамазепина в извлечениях из биологических объектов вели методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Результаты.** Полученные данные показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для разработки методик пробоподготовки биологических объектов на основе жидкость-жидкостной экстракции. Карбамазепин более полно извлекается из биожидкостей хлороформом. В результате изучения условий изолирования карбамазепина из биологических тканей (печени и почки) установлено, что в качестве изолирующих агентов для карбамазепина эффективны подкисленные полярные растворители (вода, ацетонитрил).

**Заключение.** Установлено, что оптимальным растворителем на стадии выделения карбамазепина из биологических тканей является ацетонитрил, для экстракции вещества из растворов в качестве экстрагента целесообразнее применять хлороформ.

*Ключевые слова:* судебно-химическая экспертиза, карбамазепин, биологические жидкости, биологические ткани, изолирование, экстракция, хлороформ, ацетонитрил

# DEVELOPMENT OF METHODS FOR ISOLATING CARBAMAZEPINE FROM BIOLOGICAL OBJECTS

Habieva N.A.[1], Lyust E.N.[2], Timerzyanov M.I.[1]

[1]*Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 31A, Sibirskogo trakta, 420029, Kazan, Russia*

[2]*Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, Perm, 101. Ekaterininskoj St., 614990, Perm, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To develop methods for isolating carbamazepine from biological fluids (blood, urine) and biological tissues (liver, kidney).

**Methods.** To study the extraction of carbamazepine from aqueous solutions, a liquid-liquid extraction method was used on standard carbamazepine solutions with a concentration of 10 mcg/ml. Organic solvents were used as extractants: hexane, chloroform, diethyl ether, methyltretbutyl ether, ethyl acetate, a mixture of chloroform-propanol-1 (9:1), extraction was carried out from an alkaline medium (pH 9-10). An experiment to develop a technique for isolating carbamazepine from blood and urine was carried out using model mixtures of urine and blood with a concentration of carbamazepine of 1, 10, 100 mcg/ml. Chloroform and methyltretbutyl ether were tested as extractants, the pH was 9-10. When studying the conditions for isolating carbamazepine from the tissues of internal organs, the liver and kidneys of intact laboratory animals (rats) were used to prepare model mixtures. To prepare the model mixtures, the biological sample was homogenized in distilled water (1:4) using an ultrasonic homogenizer. 250, 500, 1000 ml of carbamazepine aqueous solution with a concentration of 100 mcg/ml was added to 10 g of tissue homogenate (the introduced amount was 25, 50, 100 mcg). To extract the target substance from the tissue homogenate, water and acetonitrile acidified to pH 2 were tested. Next, the extraction was carried out with an organic solvent (chloroform, methyltretbutyl ether). The quantitative determination of carbamazepine in extracts from biological objects was carried out by high-performance liquid chromatography (HPLC).

**Results.** The data obtained showed that chloroform and methyltretbutyl ether are promising for the development of methods for sample preparation of biological objects based on liquid-liquid extraction. Carbamazepine is more fully extracted from biofluids by chloroform. The results of studying the conditions for isolating carbamazepine from biological tissues (liver and kidney) showed that acidified polar solvents (water, acetonitrile) are effective as isolating agents for carbamazepine.

**Conclusion.** It has been established that acetonitrile is the optimal solvent at the stage of carbamazepine isolation from biological tissues, and it is more expedient to use chloroform as an extractant to extract the substance from solutions.

*Keywords*: forensic chemical examination, carbamazepine, biological fluids, biological tissues, isolation, extraction, chloroform, acetonitrile

## Введение

Эпилепсия является распространенным неврологическим расстройством. Важно отметить, что эпилепсия связана с психическими сопутствующими заболеваниями, включая депрессию, беспокойство и психоз. При эпилепсии распространенность самоубийств вдвое выше, чем среди населения в целом [9].

Терапевтический мониторинг лекарственных средств может внести значительный вклад в область лечения эпилепсии, позволив эффективно оптимизировать терапию, подобрать индивидуальные схемы дозирования, установить оптимальный диапазон концентраций в крови человека и сравнить концентрации при которых судороги сдерживаются или при которых возникают побочные эффекты, специфичные для противоэпилептических препаратов.

Карбамазепин является противоэпилептическим средством и в настоящее время с успехом применяется для лечения генерализованных тонико-клонических судорог, а также простых и сложных парциальных припадков. Не утратило своего значения и направление терапии, по которому применили карбамазепин – лечение нейропатической боли (невралгия тройничного нерва и пр.). Препарат обычно хорошо переносится. Однако имеются данные об аллергических реакциях, лейкопении, тромбоцитопении, агранулоцитозе, кожных реакциях. В процессе лечения карбамазепином необходимо систематически следить за картиной крови. При передозировке карбамазепин может быть опасным для жизни [2, 3, 4]. Поэтому необходим терпевтический мониторинг для помощи в клиническом лечении пациентов с карбамазепиновой токсичностью. В судебно-химической практике карбамазепин изучен недостаточно. При производстве судебно-химических экспертиз для обнаружения препарата предложены реакции окрашивания, хроматография в тонком слое сорбента, флюоресцентно-поляризационный иммуноанализ, спектрофотометрия. Для изолирования использованы методы извлечения подкисленной водой или спиртом. Количественное определение рекомендовано проводить колориметрическим методом по продуктам гидролиза или окисления [1, 5].

В зарубежной литературе опубликованы данные об одновременном определении карбамазепина и его метаболитов в биологических жидкостях и лекарственных препаратах с использованием методов жидкость-жидкостной экстракции, дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракции, твердо-фазной экстракции [8]. Высокоэффективная жидкостная хроматография

была выбрана для определения карбамазепина в пробах воды, в тканях моллюска [7], в плазме кролика [8]. Описан метод определения карбамазепина в сыворотке крови человека на основе метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием метода трехсторонней калибровки [6]. Ряд методик требуют дорогостоящего оборудования, высококвалифицированный персонал, трудоемкий процесс подготовки образцов. Таким образом, единый подход к выделению и определению карбамазепина согласно литературным данным отсутствует, поэтому существует необходимость в разработке методов его изолирования, идентификации и количественного определения.

В данной работе предложены условия для выделения карбамазепина из биологических объектов учитывающие такие факторы как: доступность реагентов, оптимальное время выполнения работ, для количественной оценки использован метод выскокоэффективной жидкостной хроматографии, характеризующийся высокой чувствительностью, позволяющий работать с низкими концентрациями веществ, специфичностью, экспрессностью.

Цель исследования – провести исследования, направленные на разработку методов изолирования карбамазепина из биологических объектов (кровь, моча, печень, почки).

## Методика

Для изучения экстракции карбамазепина из водных растворов методом жидкость-жидкостной экстракции в качестве экстрагентов использовали следующие органические растворители: гексан, хлороформ, диэтиловый эфир, метилтретбутиловый эфир, этилацетат, смесь хлороформ-пропанол-1 (9:1). Исследования проводили на стандартных водных растворах карбамазепина с концентрацией 10 мкг/мл. Учитывая основные свойства карбамазепина, экстракцию осуществляли из щелочной среды (pH 9-10). Методика экстракции: к 500 мкл водного раствора аналита в пробирке типа Эппендорф добавляли 50 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента. Проводили однократную экстракцию путем встряхивания на шейкере в течение 5 минут. Органическую и водную фазы разделяли путем центрифугирования при 5000 об/мин в течение 5 минут, слой экстрагента после отделения упаривали в токе теплого воздуха, затем для дальнейшего исследования сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента (фосфатный буферный раствор (pH 3) – ацетонитрил (60:40)).

В качестве биологических образцов для проведения исследований выбраны: биологические жидкости (кровь, моча) и биологические ткани (печень и почки интактных лабораторных животных (крыс)).

Изолирование карбамазепина из мочи и крови проводили с использованием модельных смесей с концентрацией карбамазепина 1, 10, 100 мкг/мл. В качестве экстрагентов были апробированы хлороформ и метилтретбутиловый эфир, показавшие максимальную эффективность при экстракции соединения из его водных растворов.

Извлечение карбамазепина из модельных образцов мочи осуществляли по следующей методике: к 1000 мкл модельной смеси в пробирке типа Эппендорф добавляли 100 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента, однократно экстрагировали путем встряхивания на шейкере 5 минут. Содержимое пробирки центрифугировали со скоростью 5000 об/мин в течение 5 минут, слой экстрагента после отделения упаривали в токе теплого воздуха, затем сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента.

Изолирование карбамазепина из крови осуществляли следующим образом: к 250 мкл модельной смеси в пробирке типа Эппендорф добавляли 50 мкл раствора аммония гидроксида 10%, 1000 мкл экстрагента, однократно экстрагировали путем встряхивания на шейкере 5 минут. Содержимое пробирки встряхивали на лабораторном шейкере в течение 5 минут, затем центрифугировали 5 минут при 10000 об/мин. Слой экстрагента отделяли, упаривали в токе теплого воздуха, сухой остаток растворяли в 500 мкл элюента.

Изучение условий изолирования карбамазепина из внутренних органов (печени и почки). Для приготовления модельных смесей биологический образец гомогенизировали в дистиллированной воде (1:4) с помощью ультразвукового гомогенизатора. К 10 г гомогената ткани добавляли 250, 500, 1000 мкл водного раствора карбамазепина с концентрацией 100 мкг/мл (вносимое количество – 25, 50, 100 мкг). Методика изолирования: модельную смесь в конической колбе вместимостью 100 мл заливали 10 мл растворителя. Учитывая хорошую растворимость карбамазепина в полярных растворителях, для извлечения апробированы подкисленные до pH 2 вода и ацетонитрил. Содержимое колбы настаивали при постоянном перемешивании в течение 1

часа. Вытяжку центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 минут. Супернатант отделяли, подщелачивали раствором аммония гидроксида 25% до pH 10 и проводили двукратную экстракцию органическим растворителем (хлороформ, метилтретбутиловый эфир) порциями по 5 мл. Время каждой экстракции составляло 5 минут. Объединенные извлечения упаривали в токе теплого воздуха, сухой остаток растворяли в 1 мл элюента. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 5 мкм.

Эффективность экстракции оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в режиме изократического элюирования с использованием диодно-матричного детектора: хроматографическая колонка: ZORBAX SB-C18 (4,6 x 250 мм x 5 мкм); подвижная фаза (A-B): фосфатный буферный раствор (pH 3) – ацетонитрил (60:40); скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин; температура термостата колонки: 40°C.

По результатам эксперимента при выделении карбамазепина из образцов биообъектов проведено валидирование предложенных условий с получением удовлетворительных результатов по показателям специфичность, линейность, повторяемость.

## Результаты исследования

В проведенном эксперименте оценивали эффективность извлечения карбамазепина из водных растворов, крови, мочи, гомогенизированной ткани печени и почки в зависимости от следующих условий: природы изолирующего агента на стадии настаивания, природы экстрагента, количества вносимого в модельную смесь вещества. Данные о степени извлечения карбамазепина представлены в таблицах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Таблица 1. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из водных растворов

| Растворитель | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Гексан | Хлороформ | Хлороформ-пропанол – 1 (9:1) | Метилтретбутиловый эфир | Диэтиловый эфир | Этилацетат |
| Степень извлечения, % (n=6) | | | | | |
| 15,40 | 93,26 | 90,19 | 92,21 | 80,17 | 85,37 |
| 16,41 | 93,32 | 90,15 | 92,21 | 81,07 | 81,37 |
| 16,60 | 93,58 | 90,88 | 92,87 | 81,51 | 85,30 |
| 16,46 | 93,94 | 90,10 | 91,97 | 81,71 | 85,20 |
| 16,42 | 93,89 | 91,17 | 92,11 | 82,05 | 84,39 |
| 15,42 | 94,38 | 92,13 | 92,74 | 82,27 | 82,06 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 16,12 | $X_{ср.}$ = 93,73 | $X_{ср.}$ = 90,77 | $X_{ср.}$ = 92,35 | $X_{ср.}$ = 81,46 | $X_{ср.}$ = 83,95 |
| SD = 0,55 | SD = 0,42 | SD = 0,79 | SD = 0,36 | SD = 0,76 | SD = 1,78 |
| RSD = 3,43% | RSD = 0,45% | RSD = 0,88% | RSD = 0,39% | RSD = 0,93% | RSD = 2,12% |

Таблица 2. Результаты исследований по изучению эффективности извлечения карбамазепина из мочи (модельные смеси, %, n=6)

| Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 1 мкг/мл | | Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 10 мкг/мл | | Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 100 мкг/мл | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбути-ловый эфир | Хлороформ | Метилтретбути-ловый эфир | Хлороформ | Метилтретбути-ловый эфир | Хлороформ |
| 75,08 | 91,98 | 70,58 | 89,28 | 71,23 | 91,12 |
| 77,15 | 90,45 | 72,95 | 90,10 | 74,11 | 91,47 |
| 76,77 | 93,25 | 76,54 | 92,13 | 70,12 | 92,69 |
| 75,35 | 90,66 | 70,93 | 90,22 | 71,66 | 88,93 |
| 76,52 | 93,39 | 74,11 | 90,44 | 69.70 | 90,96 |
| 76,24 | 90,84 | 75,35 | 92,94 | 71,24 | 91,81 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 76,19 | $X_{ср.}$ = 91,76 | $X_{ср.}$ = 73,41 | $X_{ср.}$ = 90,85 | $X_{ср.}$ = 71,34 | $X_{ср.}$ = 91,16 |
| SD = 0,8133 | SD = 1,319 | SD = 2,384 | SD = 1,386 | SD = 1,548 | SD = 1,255 |
| RSD = 1,067% | RSD = 1,437% | RSD = 3,248% | RSD = 1,525% | RSD = 2,169% | RSD = 1,377% |

Установлено, что наиболее полно карбамазепин из водных щелочных растворов извлекается хлороформом и метилтретбутиловым эфиром. Введение в хлороформ полярного растворителя пропанола-1 привело к некоторому снижению экстракции карбамазепина.

Таблица 3. Результаты исследований по изучению эффективности извлечения карбамазепина из крови (модельные смеси, %, n=6)

| Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 1 мкг/мл | | Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 10 мкг/мл | | Концентрация карбамазепина в модельной смеси, 100 мкг/мл | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ |
| 68,56 | 88,92 | 63,60 | 89,91 | 66,75 | 85,09 |
| 69,49 | 91,81 | 68,71 | 86,71 | 68,86 | 88,29 |
| 67,27 | 88,97 | 65,36 | 90,58 | 69,75 | 87,46 |
| 70,68 | 86,89 | 65,77 | 92,41 | 67,81 | 86,83 |
| 69,60 | 90,49 | 68,21 | 91,15 | 67,74 | 92,79 |
| 68,24 | 90,73 | 67,11 | 92,09 | 69,85 | 85,19 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 68,97 | $X_{ср.}$ = 89,64 | $X_{ср.}$ = 66,46 | $X_{ср.}$ = 90,47 | $X_{ср.}$ = 68,46 | $X_{ср.}$ = 87,61 |
| SD = 1,199 | SD = 1,741 | SD = 1,919 | SD = 2,065 | SD = 1,235 | SD = 2,833 |
| RSD = 1,738% | RSD = 1,942% | RSD = 2,887% | RSD = 2,282% | RSD = 1,803% | RSD = 3,234% |

Полученные данные свидетельствуют о том, что карбамазепин более полно извлекается из биожидкостей хлороформом (88-93 % из мочи; 85-92 % из крови).

Таблица 4. Результаты исследований по изучению степени выделения карбамазепина из ткани печени при использовании на стадии настаивания подкисленной воды (модельные смеси, %, n=6)

| Внесено 25 мкг карбамазепина | | Внесено 50 мкг карбамазепина | | Внесено 100 мкг карбамазепина | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловыйэфир | Хлороформ |
| 64,50 | 69,69 | 64,42 | 74,30 | 60,57 | 72,47 |
| 60,35 | 72,07 | 62,83 | 69,76 | 61,38 | 71,42 |
| 63.50 | 74,40 | 63,48 | 71,80 | 64,78 | 70,14 |
| 63,06 | 73,50 | 64,62 | 72,64 | 63,16 | 71,24 |
| 63,42 | 67,16 | 61,17 | 68,40 | 59,40 | 71,07 |
| 61,03 | 68,10 | 61,44 | 70,11 | 61,79 | 70,54 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 62,64 | $X_{ср.}$ = 70,82 | $X_{ср.}$ = 62,99 | $X_{ср.}$ = 71,17 | $X_{ср.}$ = 61,85 | $X_{ср.}$ = 71,15 |
| SD = 1,601 | SD = 2,954 | SD = 1,462 | SD = 2,151 | SD = 1,906 | SD = 0,803 |
| RSD = 2,556% | RSD = 4,171% | RSD = 2,320% | RSD = 3,023% | RSD = 3,082% | RSD = 1,128% |

Таблица 5. Результаты исследований по изучению степени выделения карбамазепина из ткани печени при использовании на стадии настаивания подкисленного ацетонитрила (модельные смеси, %, n=6)

| Внесено 25 мкг карбамазепина | | Внесено 50 мкг карбамазепина | | Внесено 100 мкг карбамазепина | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловыйэфир | Хлороформ |
| 65,92 | 84,05 | 72,98 | 84,88 | 72,86 | 83,83 |
| 67,31 | 78,32 | 73,80 | 81,83 | 71,26 | 80,41 |
| 69,09 | 78,96 | 72,62 | 83,19 | 70,11 | 81,14 |
| 67,51 | 82,96 | 70,45 | 83,41 | 69,75 | 82,38 |
| 65,89 | 85,64 | 70,61 | 82,93 | 69,80 | 80,12 |
| 66,33 | 83,11 | 69,25 | 78,05 | 70,28 | 81,15 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 67,01 | $X_{ср.}$ = 82,17 | $X_{ср.}$ = 71,62 | $X_{ср.}$ = 82,38 | $X_{ср.}$ = 70,68 | $X_{ср.}$ = 81,51 |
| SD = 1,231 | SD = 2,905 | SD = 1,767 | SD = 2,338 | SD = 1,201 | SD = 1,382 |
| RSD = 1,836% | RSD = 3,536% | RSD = 2,467% | RSD = 2,837% | RSD = 1,699% | RSD = 1,695% |

Таблица 6. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из ткани почки при использовании на стадии настаивания подкисленной воды (модельные смеси, %, n=6)

| Внесено 25 мкг карбамазепина | | Внесено 50 мкг карбамазепина | | Внесено 100 мкг карбамазепина | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловыйэфир | Хлороформ |
| 60,92 | 66,63 | 64,24 | 71,32 | 64,79 | 70,87 |
| 57,61 | 69,49 | 61,14 | 70,73 | 60,09 | 70,94 |
| 66,14 | 70,21 | 60,83 | 70,53 | 60,59 | 71,58 |
| 62,67 | 71,29 | 61,04 | 70,54 | 60,49 | 72,41 |
| 62,26 | 65,89 | 61,50 | 70,92 | 62,68 | 72,03 |
| 64,45 | 73,69 | 62,25 | 72,09 | 64,96 | 73,07 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 62,34 | $X_{ср.}$ = 69,53 | $X_{ср.}$ = 61,83 | $X_{ср.}$ = 71,02 | $X_{ср.}$ = 62,27 | $X_{ср.}$ = 71,82 |
| SD = 2,946 | SD = 2,916 | SD = 1,28 | SD = 0,599 | SD = 2,213 | SD = 0,859 |
| RSD = 4,726% | RSD = 4,194% | RSD = 2,070% | RSD = 0,8447% | RSD = 3,555% | RSD = 1,196% |

Таблица 7. Результаты исследований по изучению степени извлечения карбамазепина из ткани почки при использовании на стадии настаивания подкисленного ацетонитрила (модельные смеси, %, n=6)

| Внесено 25 мкг карбамазепина | | Внесено 50 мкг карбамазепина | | Внесено 100 мкг карбамазепина | |
|---|---|---|---|---|---|
| Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловый эфир | Хлороформ | Метилтретбутиловыйэфир | Хлороформ |
| 65,02 | 81,43 | 70,83 | 82,19 | 68,76 | 83,53 |
| 67,06 | 81,70 | 70,94 | 80,77 | 68,31 | 81,15 |
| 68,95 | 85,41 | 71,45 | 82,98 | 69,67 | 81,87 |
| 70,50 | 81,18 | 71.36 | 83.17 | 70,66 | 83,02 |
| 65,64 | 83,44 | 68,71 | 82,51 | 71,36 | 79,64 |
| 61,84 | 79,90 | 69,72 | 78,65 | 71,76 | 80,93 |
| Метрологические характеристики | | | | | |
| $X_{ср.}$ = 66,5 | $X_{ср.}$ = 82,18 | $X_{ср.}$ = 70,5 | $X_{ср.}$ = 81,71 | $X_{ср.}$ = 70,09 | $X_{ср.}$ = 81,69 |
| SD = 3,065 | SD = 1,95 | SD = 1,073 | SD = 1,724 | SD = 1,403 | SD = 1,432 |
| RSD = 4,608% | RSD = 2,373% | RSD = 1,522% | RSD = 2,110% | RSD = 2,002% | RSD = 1,753% |

Полярные растворители (вода, ацетонитрил) эффективны в качестве изолирующих агентов для карбамазепина из биологических тканей. Степень извлечения карбамазепина хлороформом из биологических тканей при использовании на стадии настаивания подкисленной воды составляет 65-74%, при использовании подкисленного ацетонитрила – 78-85%

## Обсуждение результатов исследования

Полученные результаты исследования показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для разработки методик пробоподготовки биологических объектов на основе жидкость-жидкостной экстракции. Для экстрагирования карбамазепина из биологических жидкостей предложено использовать хлороформ. Результаты изучения условий изолирования карбамазепина из биологических тканей (печени и почки) показали, что подкисленные полярные растворители (вода, ацетонитрил) эффективны в качестве изолирующих агентов для карбамазепина. Максимальное извлечение карбамазепина на всех уровнях концентраций достигалось при использовании на стадии экстракции молекулярной формы аналита хлороформа. Несмотря на то, что получены сопоставимые результаты по степени извлечения вещества, как при использовании воды, так и ацетонитрила, в качестве оптимального изолирующего агента рекомендован ацетонитрил. При выборе растворителя руководствовались следующими фактами: ацетонитрильное извлечение визуально более чистое по сравнению с водным, быстро фильтруется, при встряхивании с хлороформом практически не образует эмульсию. В соответствии с разработанной методикой изолирования карбамазепина провели эксперименты с «холостыми» пробами. Установлено, что на хроматограммах всех исследованных образцов отсутствуют интерферирующие пики со временами удерживания, близкими к карбамазепину.

## Выводы

1. Изучен процесс экстракции карбамазепина из водных растворов с pH 9-10. Полученные данные показали, что хлороформ и метилтретбутиловый эфир перспективны для экстракционных методик пробоподготовки биологических объектов.

2. На модельных смесях разработаны условия жидкость-жидкостной экстракции карбамазепина из биологических жидкостей. Для биоматериала в качестве оптимального растворителя на стадии настаивания тканей выбран ацетонитрил, в качестве экстрагента – хлороформ.
3. Оценена специфичность хроматографических условий с учетом отсутствия интерферирующих пиков со временами удерживания, близкими к карбамазепину, на хроматограммах всех исследованных образцов.

## Литература (refereces)


1. Вергейчик Т.Х., Шабалин С.В. Определение карбамазепина в трупном материале с использованием производной спектрофотометрии // Судебно-медицинская экспертиза. – 1993. – №1. – С. 32-34. [Vergeychik T.H., Shabalin S.V. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza.* Forensic medical examination. – 1993. – N1. – P. 32-34 (in Russian)]
2. Кутлубаев М.А. Суицидальное поведение при неврологических заболеваниях: частота, предрасполагающие факторы, подходы к профилактике // Неврологический журнал. – 2016. – №3. – С. 124-130. [Kutlubaev M.A. *Nevrologicheskij zhurnal.* Neurological Journal. – 2016. – N3. – P. 124-130. (in Russian)]
3. Маслов О.Г., Брусин К.М., Новикова О.В. Особенности клиники и интенсивной терапии при острых отравлениях карбамазепином // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2010. – №1. – С. 31-33. [Maslov O.G., Brusin K.M., Novikova O.V. *Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoj nauki.* Bulletin of the Ural Medical Academic Science. – 2010. – N1. – P. 31-33. (in Russian)]
4. Пылаева О.А. Мухин К.Ю., Шатенштейн А.А. Эпилепсия и риск суицида (обзор литературы). Русский журнал детской неврологии. – 2013. – Т.8, №2. – С. 23-40. [Pylaeva O.A. Mukhin K.Yu., Shatenstein A.A. *Russkij zhurnal detskoj nevrologii.* Russian Journal of Pediatric Neurology. – 2013. – V.8, N2. – P. 23-40. (in Russian)]
5. Шабалин С.В., Вергейчик Т.Х. Методика изолирования карбамазепина из трупного материала и определение его методом флюоресцентно-поляризационногоиммуноанализа // Судебно-медицинская экспертиза. – 1993. – №4. – С. 29-30. [Shabalin S.V., Vergeychik T.H. *Sudebno-medicinskaya ekspertiza.* Forensic medical examination. – 1993. – N4. – P. 29-30 (in Russian)]
6. Ghafghazia Sh., Zanjania T.M., Vosough M. and others. Interference-free Determination of Carbamazepine in Human Serum Using High Performance Liquid Chromatography: A Comprehensive Research with Three-way Calibration Methods // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2017. – N16(1). – P. 120-131.
7. Jaouania R., Dellalia M., Mouneyracb C. and others. Assessment of carbamazepine acute toxicity in the cockle Cerastoderma edule through chemical, physiological and biochemical tools // Brazilian Journal of Biology. – 2022. – V. 82. – P. 190-193.
8. Mowafy H.A., Alanazi F.K., Maghraby G.M. Development and validation of an HPLC–UV method for the quantification of carbamazepine in rabbit plasma // Saudi Pharmaceutical Journal. – 2012. – N20(1). – P. 29-34.
9. Sirven J.I. Management of epilepsy comorbidities // Continuum (Minneapolis, Minn). – 2016. – N22(1 Epilepsy). – P. 191-203.


**Информация об авторах**


*Хабиева Наталия Александровна* – заведующий отделением ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ». E-mail: Habieva.Nataliya@yandex.ru

*Люст Елена Николаевна* – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: elenalyust@mail.ru

*Тимерзянов Марат Исмагилович* – доктор медицинских наук, начальник ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ». E-mail: Marat.Timerzyanov@tatar.ru


**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.


Поступила 18.09.2023

Принята к печати 15.10.2023

*УДК 615.322* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.26 EDN: WDPMGO*

# ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И АНТИАГРЕГАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ МАЛИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*RUBUS IDAEUS L.*)

**© Гуляев Д.К.[1], Белоногова В.Д.[1], Крылова И.Д.[2], Юлмухаметова Г.Р.[2], Курбанова Ч.С.[2]**

[1]*Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2*

[2]*Башкирский государственный медицинский университет, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3*

*Резюме*

**Цель.** Определение содержания биологически активных веществ и антиагрегантной активности малины обыкновенной корневищ с корнями.

**Методика.** Определение суммы полифенольных соединений проводили с реактивом Folin-Ciocalteu. Количественное определение содержания дубильных веществ проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи. Определение содержания процианидинов в малины обыкновенной корневищах с корнями проводили с помощью кислотного расщепления процианидинов до антоцианидинов по методу Портера. Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови здоровых доноров-мужчин. Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводили по методу Born.

**Результаты.** По результатам качественных реакций в малины обыкновенной корневищах с корнями обнаружены сапонины, фенольные соединения, дубильные вещества и полисахариды. По результатам количественного определения установлено, что основной группой биологически активных веществ в корневищах с корнями малины обыкновенной являются дубильные вещества (9,76±0,95) и сапонины (4,94±0,35). Установлено, что сухой водный экстракт малины обыкновенной корневищ с корнями проявляет антиагрегационную активность (таблица 3), которая проявляется удлинением lag-периода и снижением агрегации тромбоцитов.

**Заключение.** В корневищах с корнями малины обыкновенной преобладают дубильные вещества гидролизуемой группы. Сухой водный экстракт малины обыкновенной корневищ с корнями обладает антиагрегантным действием, превосходящим по силе ацетилсалициловую кислоту.

*Ключевые слова*: малина обыкновенная, корневища с корнями, дубильные вещества, сапонины, сухой экстракт, антиагрегантная активность

# INVESTIGATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AND ANTIPLATELET ACTIVITY OF UNDERGROUND ORGANS OF RASPBERRIES (*RUBUS IDAEUS L.*)

Guljaev D.K.[1], Belonogova V.D.[1], Krylova I.D.[2], Julmuhametova G.R.[2], Kurbanova Ch.S.[2]

[1]*Perm State Pharmaceutical Academy, 2, Polevaya St., 614990, Perm, Russia*

[2]*Bashkir State Medical University, 3, Lenin St., 450008, Ufa, Russia*

*Abstract*

**Objective.** Determination of the content of biologically active substances and antiplatelet activity of raspberry ordinary rhizomes with roots.

**Methods.** The determination of the sum of polyphenolic compounds was carried out with the Folin-Ciocalteu reagent. Quantitative determination of the tannin content was carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia. Determination of the content of procyanidins in raspberry ordinary rhizomes with roots was carried out using acid cleavage of procyanidins to anthocyanidins by the Porter method. In vitro experiments were performed on the blood of healthy male donors. The study of the effect on platelet aggregation was carried out using the Born method.

**Results.** According to the results of qualitative reactions, saponins, phenolic compounds, tannins and polysaccharides were found in ordinary raspberry rhizomes with roots. According to the results of quantitative determination, it was found that the main group of biologically active substances in rhizomes

with raspberry roots are tannins (9.76±0.95) and saponins (4.94±0.35). It was found that the dry aqueous extract of raspberry ordinary rhizome with roots exhibits antiaggregational activity (Table 3), which is manifested by an elongation of the lag period and a decrease in platelet aggregation.

**Conclusion**. In rhizomes with raspberry roots, tannins of the hydrolyzable group predominate. Dry aqueous extract of raspberry ordinary rhizome with roots has an antiplatelet effect, superior in strength to acetylsalicylic acid.

*Keywords*: red raspberry, rhizomes with roots, tannins, saponins, dry extract, antiplatelet activity

## Введение

Малина обыкновенная (*Rubus idaeus L.*) распространена в лесной зоне по всей территории России от Кавказа до Дальнего Востока и имеет хорошо обеспеченную сырьевую базу. В настоящее время у малины обыкновенной заготавливают плоды для применения в качестве потогонного и жаропонижающего средства. Малина обыкновенная широко распространена в подлеске, где она не перспективна для заготовки плодов, но является огромным сырьевым источником подземных органов, которые издавна применялись в народной медицине и представляют интерес для внедрения в медицинскую практику.

Подземные органы рода *Rubus* и их экстракты в экспериментах обладали противовоспалительной, гепатопротекторной, противораковой активностью [4, 7, 8, 10]. Наши прошлые исследования сухого водного экстракта малины обыкновенной корневищ с корнями позволили установить антидиабетическую активность, сравнимую по выраженности действия с метформином, одним из самых популярных антидиабетических препаратов [1, 2].

При поиске новых возможных видов активности, наше внимание привлекло исследование, где показано как экстракт листьев *Rubus idaeus L.* значительно ингибировал агрегацию тромбоцитов в крови, стимулированной аденозинтрифосфатом [5]. Представляло интерес, определить антиагрегантную активность малины обыкновенной корневищ с корнями.

Антиагрегантоное действие растительного сырья и лекарственных растительных препаратов часто связывают с фенолами и полифенольными соединениями [3]. Поэтому, в задачи исследования было включено определение содержания дубильных веществ и полифенолов.

В подземных органах рода *Rubus* обнаружены сапонины. В корнях растения *Rubus innominatus S. Moore*., производные олеаноловой, урсоловой кислот [4]. В подземных органах *Rubus chingii Hu* обнаружили урсоловую кислоту, эускафиновую кислоту, 11α-гидроксиэускафиновую кислоту [10]. Широкое распространение сапонинов в подземных органах рода *Rubus* дает основание для исследований по определению их содержания в подземных органах малины обыкновенной.

Цель исследования – определение содержания биологически активных веществ и антиагрегантной активности малины обыкновенной корневищ с корнями.

## Методика

Объектами исследования являлись корневища с корнями малины обыкновенной. Подземные органы собирали в октябре 2022 года. Данное сырье было собрано в подлеске смешанного и темнохвойного леса.

Определение суммы полифенольных соединений проводили с реактивом Folin−Ciocalteu [6]. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл спирта этилового 60%. Колбу закрывали и взвешивали с погрешностью +0,01 г, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 40 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры, закрывали пробкой, взвешивали с погрешностью +0,01 г и доводили массу спиртом этиловым 60% до первоначальной и перемешивали. Полученный экстракт центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 2500 об/мин. Затем готовили разведение экстракта в соотношении 1:1 (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 0,1 мл раствора А, прибавляли 0,5 мл реактива Folin-Ciocalteu, 10 мл воды очищенной и доводили объем раствора до метки 15% раствором

натрия карбоната (раствор Б). Через 40 мин измеряли оптическую плотность полученного раствора Б на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 760 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 0,5 мл реактива Folin-Ciocalteu, 10 мл воды очищенной и доведенный 15% раствором натрия карбоната до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Содержание суммы фенольных соединений (X) в пересчете на галловую кислоту и абсолютно сухое сырье, в процентах, вычисляли по формуле 1:

$$X = \frac{C \times V \times V_1 \times 2 \times 100 \times 100}{m \times V_2 \times (100 - W) \times 1000}$$, где

C – содержание фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, найденное по калибровочному графику, в мг/мл; V – объем полученного извлечения, в мл; $V_1$ – объем колбы (25 мл); $V_2$ – объем пипетки (0,1 мл); 2 – разбавление; m – масса навески, в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья, в %

Количественное определение содержания дубильных веществ проводили в соответствии с ОФС № 1.5.3.008.18 ГФ 14 издания титриметрическим методом, основанным на легкой окисляемости дубильных веществ раствором перманганата калия в присутствии индикатора индигосульфокислоты до золотисто-желтого окрашивания.

Определение содержания процианидинов в малины обыкновенной корневищах с корнями проводили с помощью кислотного расщепления процианидинов до антоцианидинов по методу Портера [13].

Определение содержания сапонинов проводили по следующей методике: сырье измельчали до частиц размером 1 мм. Точную навеску около 1,0 экстрагировали 50 мл спирта этилового 70% в течение 1 часа на водяной бане. Спирт удаляли путем отгонки, после чего водный остаток обрабатывали 10 мл хлороформа. Хлороформную фракцию отделяли и отбрасывали. К очищенному водному остатку прибавляли 3 мл серной кислоты концентрированной и 12 мл уксусной кислоты ледяной. Содержимое колбы нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 часа. Образовавшиеся агликоны извлекали хлороформом трехкратно по 10 мл. Хлороформный слой промывали водой порциями по 20 мл в делительной воронке до pH=7. Хлороформ фильтровали через бумажный фильтр, на который помещали 2 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу объемом 50 мл; фильтр промывали 10 мл хлороформа. Затем содержимое колбы доводили до метки хлороформом. В мерную пробирку помещали 0,4 мл фильтрата, хлороформ удаляли до сухого остатка при нагревании на водяной бане. К сухому остатку прибавляли серную кислоту, концентрированную до объема 5 мл. Смесь термостатировали при температуре 700°С в течение 1 часа. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре в кварцевых кюветах с толщиной слоя 1 см при λ=315 нм, в качестве раствора сравнения использовали серную кислоту концентрированную. Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту и абсолютно-сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times V_1 \times V_3}{\varepsilon_{1см}^{1\%} \times m \times V_2} \times \frac{100}{(100 - W)}$$, где

A – значение оптической плотности; ε – удельный показатель поглощения олеаноловой кислоты, равный 311; m – масса сырья, г; $V_1$ – объем извлечения, равный 50 мл; $V_2$ – объем извлечения, взятый для разведения, равный 0,4 мл; $V_3$ – объем разведения, равный 5 мл

Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Общее количество доноров составило 11 человек. Забор крови для исследования соединений в отношении системы гемостаза проводился из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной крови использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Все тесты проводились на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазмах. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 минут, бестромбоцитарной плазмы – при 3000 об/мин в течение 20 минут. В работе использовалась центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Киргизия).

Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводили по методу Born G.G. (1962) на агрегометре «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия). В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл

производства «Технология-Стандарт» (Россия). Проводили оценку максимальной амплитуды агрегации, скорости агрегации, время достижения максимальной амплитуды и дезагрегацию в присутствии изучаемых соединений при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. При коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивали латентный период, во время которого происходит активация фосфолипазы С (что приводит к образованию вторичных посредников, вследствие чего развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана А2). Исследуемый экстракт вносили в плазму из расчета 5% от объема реакционной смеси. Антиагрегационная активность пентоксифиллина и ацетилсалициловой кислоты представлена для концентрации $1\times10^{-3}$ М/л.

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Выявлено, что вид распределения полученных данных отличается от нормального, поэтому при дальнейшей работе использовались непараметрические методы. Данные представлены в виде медианы, 25 и 75 процентилей. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05.

## Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе работы с растительным сырьем проводят качественные реакции для определения групп биологически активных веществ. Поэтому, нами проведены качественные реакции с отваром малины обыкновенной корневищ с корнями. Отвар готовили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи XIV издания. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Качественные реакции на основные группы БАВ малины обыкновенной корневищ с корнями

| № п/п | Группа БАВ | Реакция | Ожидаемый эффект | Результат |
|---|---|---|---|---|
| 1. | Кумарины | С 10% раствором NaOH (лактонная проба) | 1-я пробирка с NaOH – желтый раствор<br>2-я пробирка – раствор мутнеет | Отрицательно |
| 2. | Сапонины | Пенообразования | Образование устойчивой пены | Устойчивая пена в пробирке с кислой средой (тритерпеновые сапонины) |
| 3. | Флавоноиды | Проба Синода | Оранжево-красное окрашивание | Отрицательно |
| | | С 2% раствором $AlCl_3$ | Желтое с желто-зеленой флуоресценцией | Отрицательно |
| 4. | Фенольные соединения | Реакция образования азокрасителя | Окрашивание от оранжевого до вишнево-красного | Красное окрашивание |
| | | С раствором $FeCl_3$, 3% | | Желто-оранжевое окрашивание |
| 5. | Дубильные вещества | С 1% раствором ЖАК | Черно-синее или черно-зеленое окрашивание | Черно-синее окрашивание |
| | | С 1% раствором желатина | Муть или белый хлопьевидный осадок | Муть |
| 6. | Полисахариды | С 95% спиртом этиловым | Белый хлопьевидный осадок | Белый хлопьевидный осадок |
| 7. | Алкалоиды | С реактивом Драгендорфа | Оранжевый или красно-бурый осадок | Отрицательно |
| | | С реактивом Вагнера | Бурый осадок | Отрицательно |
| | | С реактивом Бушарда | Бурый осадок | Отрицательно |
| | | С пикриновой кислотой | Желтый осадок | Отрицательно |

По результатам качественных реакций в малины обыкновенной корневищах с корнями обнаружены сапонины, фенольные соединения, дубильные вещества и полисахариды. Флавоноиды были не обнаружены, эти данные согласуются с результатами высокоэффективной жидкостной хроматографии сухого водного экстракта малины обыкновенной корневищ с корнями [4]. Определение содержания сапонинов определяли в пересчете на олеаноловую кислоту. Ранее было установлено, что основным агликоном сапонинов в экстракте корневищ с корнями малины обыкновенной является олеаноловая кислота. На ВЭЖХ-УФ хроматограмме экстракта корневищ с корнями малины после гидролиза при 210 нм наблюдается максимум 18,2 мин., что совпадает со временем удерживания стандартного образца олеаноловой кислоты [4]. Результаты количественного определения основных групп БАВ представлены в табл. 2.

Таблица 2. Содержание основных групп биологически активных веществ в малины обыкновенной корневищах с корнями

| № | Группа БАВ | Содержание в сырье, % |
|---|---|---|
| 1. | Сапонины | 4,94±0,35 |
| 2. | Дубильные вещества | 9,76±0,95 |
| 3. | Процианидины | 2,17±0,2 |
| 4. | Сумма фенольных соединений с реактивом Folin-Ciocalteu | 7,36±1,34 |

В результате исследования установлено, что дубильные вещества являются основной группой биологически активных веществ в малины обыкновенной корневищах с корнями. Дубильные вещества представлены преимущественно гидролизуемой группой, на что указывает черно-зеленое окрашивание с 1% раствором ЖАК и не высокое содержание процианидинов, относящихся к конденсированной группе. Однако, следует учитывать, что окисляются перманганатом калия не только макромолекулы дубильных веществ, но и некоторые другие группы веществ.

На следующем этапе исследования определяли влияние водного экстракта корневищ с корнями малины обыкновенной на агрегацию тромбоцитов в условиях *in vitro*. Результаты исследования представлены в табл. 3.

Таблица 3. Влияние сухого водного экстракта малины обыкновенной корневищ с корнями на показатели агрегации тромбоцитов

| № | Вещество | Латентный период, % к контролю | Макс. амплитуда, % к контролю | Скорость агрегации, % к контролю | Время достижения МА, % к контролю |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Экстракт малины обыкновенной корневищ с корнями | -1,3 (1,0–3,6) † | -20,5 (17,4–21,7) *, #, † | -30,4 (28,5–33,7) *, # | +12,6 (10,5–14,7) *, † |
| 2. | Ацетилсалициловая кислота | -2,1 (1,1–2,6) | -13,7 (10,8-16,4) * | -10,5 (7,6-12,3) * | +10,5 (8,7-13,4) * |
| 3. | Пентоксифиллин | +32,4 (28,7-5,6) **, ## | -48,4 (42,7-56,5) **, ## | -34,9 (28,7-39,6) ** | +32,1 (27,6-36,4) **, # |

Примечание: *p<0,05 – в сравнении с контролем; #p<0.05 – в сравнении с ацетилсалициловой кислотой; †p≤0,05 – в сравнении с пентоксифиллином

Установлено, что сухой водный экстракт малины обыкновенной корневищ с корнями проявляет антиагрегационную активность, которая проявляется удлинением lag-периода и снижением агрегации тромбоцитов. Исследуемый экстракт превосходит по уровню антиагрегационной активности ацетилсалициловую кислоту, которая выступала в качестве препарата сравнения.

## Заключение

По результатам исследования установлено, что основными группами биологически активных веществ малины обыкновенной корневищ с корнями являются дубильные вещества, сапонины. В сырье преобладают дубильные вещества гидролизуемой группы. Сухой водный экстракт малины обыкновенной корневищ с корнями обладает антиагрегантным действием, превосходящим по силе ацетилсалициловую кислоту.

## Литература (references)


1. Гуляев Д.К., Бояршинов В.Д., Белоногова В.Д. и др. Мочегонная активность подземных органов малины обыкновенной // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.21, №1. – С. 181-188. [Guljaev D.K., Bojarshinov V.D., Belonogova V.D. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – V.21, N1. – P. 181-188. (in Russian)]
2. Гуляев Д.К., Бояршинов В.Д., Белоногова В.Д. и др. Средство, обладающее гипогликемическим действием, полученное из малины обыкновенной корневищ с корнями // Патент РФ на изобретение № 2793328. Опубликовано 31.03.2023. Бюллетень №10. [Guljaev D.K., Bojarshinov V.D., Belonogova V.D. i dr. *Sredstvo, obladajushhee gipoglikemicheskim dejstviem, poluchennoe iz maliny obyknovennoj kornevishh s kornjami.* A remedy with hypoglycemic effect obtained from raspberry ordinary rhizomes with roots // RF patent for invention No. 2793328. Published on 03/31/2023. Bulletin N10. (in Russian)]
3. Alarcon M., Fuentes E., Olate N. et al. Strawberry extract presents antiplatelet activity by inhibition of inflammatory mediator of atherosclerosis // Platelets. – 2015. – V.26., N3. – P. 224-229.
4. Chen Z., Tong L., Feng Y. et al. Ursane-type nortriterpenes with a five-membered A-ring from Rubus innominatus // Phytochemistry. – 2015. – V.116. – P. 329-336.
5. Dudzinska D., Bednarska K., Boncler M., etc. The influence of Rubus idaeus and Rubus caesius leaf extracts on platelet aggregation in whole blood. Cross-talk of platelets and neutrophils, Platelets. – 2016. – V.27., N5. – P. 433-439.
6. Gabriel A.A., Vinson J.A., Donnelly P.E. Folin-Ciocalteau reagent for polyphenolic assay // International Journal of Food Sciences and Nutrition. – 2014. – V.3, N8. – P. 147-156.
7. Hong Z., Chen W., Zhao J., etc. Hepatoprotective effects of Rubus aleaefolius Poir. and identification of its active constituents // Journal of Ethnopharmacology. – 2010. – 129. – P. 267-272.
8. Li Y., Zhao J., Zheng H., etc. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease with total alkaloids in Rubus aleaefolius Poir through regulation of fat metabolism // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2014. – V.2014. – P. 768540.
9. Shi L., Wang J., Yunkai L. Research progress on analysis methods of procyanidins. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2021. – V.705., N1. – P. 012006.
10. Xie Y.H., Zhou L.J., Luo J.L. et al. Isolation and identification of the structure of chemical components Rubus chingii Hu // Lishizhen Medicine and Materia Medica Research. – 2013. – V.24. – P. 786-787.


**Информация об авторах**


*Гуляев Дмитрий Константинович* – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: dkg2014@mail.ru

*Белоногова Валентина Дмитриевна* – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: belonogovavd@yandex.ru

*Крылова Ирина Дмитриевна* – студентка педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: i.krylova16@yandex.ru

*Юлмухаметова Гульшат Ралифовна* – ассистент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: julm-gr@ya.ru

*Курбанова Чынара Саидовна* – ассистент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: chynara4919@gmail.com


**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.


Поступила 15.09.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 615.322, 615.072* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.27 EDN: XGZOCP*

# РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ХЛОРОФИЛЛОВ В ЛИСТЬЯХ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ

**© Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Колотнева А.И.**

*Воронежский государственный университет, Россия, 394018, Воронеж, Университетская пл., 1*

*Резюме*

**Цель**. разработать и валидировать спектрофотометрическую методику количественного определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной.

**Методика.** Объект исследования – высушенные (влажность не более 10%) листья облепихи крушиновидной. Разработка методики спектрофотометрического определения каротиноидов и хлорофиллов проведена на основе определения аналогичных соединений в листьях крапивы двудомной. Валидация проведена в соответствии с Государственной фармакопеей XIV издания.

**Результаты.** При подборе оптимальной степени измельчения использовали сырьё 5-ти фракций, причём с уменьшением размера частиц выход каротиноидов и хлорофиллов возрастал. При выборе экстрагента сравнивали выход веществ при экстракции спиртом этиловым в концентрациях 70 и 96%об., но наилучший выход наблюдался при использовании этанола 70%об., так как, согласно литературным данным, каротиноиды и хлорофиллы лучше экстрагируются водно-спиртовыми смесями. При подборе времени наблюдалось возрастание выхода веществ в извлечение с увеличением продолжительности экстракции с максимумом при 45 минутах. При увеличении кратности экстракции до 2-х выход каротиноидов и хлорофиллов увеличивался, снижаясь при использовании 3-х кратной экстракции. Влияние фильтрующего материала связано с возможным забиванием пор бумажного фильтра сопутствующими высокомолекулярными веществами и адсорбции целевых веществ на поверхности этих соединений. Валидация методики проведена по таким критериям, как прецизионность на уровне сходимости, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, аналитическая область методики, специфичность.

**Заключение**. Оптимальной степенью измельчения, при которой наблюдается максимальный выход каротиноидов и хлорофиллов из сырья, является 0,5-1,0 мм, экстракцию рекомендовано проводить спиртом этиловым 70%об. при соотношении сырьё:экстрагент 1: 200 в течение 45 минут двухкратно. Разработанная методика валидна и пригодна для спектрофотометрического определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной.

*Ключевые слова:* листья облепихи крушиновидной, хлорофиллы, каротиноиды, спектрофотометрия, валидация

# DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF CAROTENOIDS AND CHLOROPHYLLS OF SEA BUCKTHORN LEAVES

Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Kolotneva A.I.

*Voronezh State University, 1, Universitetskaya Pl., 394018, Voronezh, Russia*

*Abstract*

**Objective**. The aim is to develop and validate a spectrophotometric method for the quantitative determination of carotenoids and chlorophylls in sea buckthorn leaves.

**Methods**. The object of the study is dried (humidity not more than 10%) leaves of sea buckthorn. The development of a technique for the spectrophotometric determination of carotenoids and chlorophylls was carried out on the basis of the determination of similar compounds in the leaves of stinging nettle. Validation was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia XIV edition.

**Results**. When selecting the optimal degree of grinding, raw materials of 5 fractions were used, and with a decrease in the particle size, the yield of carotenoids and chlorophylls increased. When choosing an extractant, we compared the yield of substances during extraction with ethyl alcohol at concentrations of

70 and 96% vol., but the best yield was observed when using ethanol 70% vol., since, according to the literature data, carotenoids and chlorophylls are better extracted with water-alcohol mixtures. When choosing the time, an increase in the yield of substances in the extraction was observed with an increase in the duration of extraction with a maximum at 45 minutes. With an increase in the extraction ratio to 2, the yield of carotenoids and chlorophylls increased, decreasing when using a 3-fold extraction. The influence of the filter material is associated with the possible clogging of the pores of the paper filter with the accompanying macromolecular substances and the adsorption of target substances on the surface of these compounds. The validation of the method was carried out according to such criteria as precision at the level of convergence, limit of detection, limit of quantification, linearity, analytical area of the method, specificity.

**Conclusion**. The optimal degree of grinding, at which the maximum yield of carotenoids and chlorophylls from raw materials is observed, is 0.5-1.0 mm; extraction is recommended to be carried out with ethyl alcohol 70% vol. at a ratio of raw material: extractant 1: 200 for 45 minutes twice. The developed method is valid and suitable for spectrophotometric determination of carotenoids and chlorophylls in sea buckthorn leaves.

*Keywords:* sea buckthorn leaves, chlorophylls, carotenoids, spectrophotometry, validation

## Введение

Облепиха крушиновидная – ценное лекарственное растение, плоды которого богаты каротиноидами, витаминами и используются для получения облепихового масла пищевого и фармацевтического назначения. Препараты на его основе (суппозитории, ректокапсулы, масло для приема внутрь и наружного применения) применяются в качестве средств, ускоряющих репаративные процессы при раневых повреждениях, а также при язве желудка и двенадцатиперстной кишки, геморроидальных трещинах. Помимо плодов, заготовке также подлежат и листья облепихи с целью получения экстракта, содержащего полифенольный комплекс, для производства противовирусного препарата «Гипорамин» [12,17].

Богатый химический состав обуславливает широкий спектр фармакологической активности, среди которых выделяют противовирусную, противовоспалительную, антиоксидантную и адаптогенную активности. Ряд российских и зарубежных исследователей активно занимаются изучением возможных видов активности экстрактов из листьев облепихи (спиртовые, водно-спиртовые, водные) [6,10,18-21]. Следует отметить, что, согласно литературным данным, экстракты показывают отличные результаты в оценке токсичности при исследованиях *in vivo*. При оценке цитотоксичности водного экстракта из листьев облепихи установлено, что в концентрации 25-400 г/мл не обнаружено цитотоксического влияния на обработанные клетки. При оценке острой токсичности в дозе 5 г/кг массы тела животного не отмечено смерти или ухудшения состояния ни одного из животных. С целью оценки кожной токсичности водный экстракт вводили в дозе 1 г/кг/сут в течение 28 дней, в результате чего не выявлено существенных изменений в массе тела животных, биохимических показателях крови, а также гистологических изменений [22].

Листья облепихи крушиновидной являются перспективным лекарственных растительным (ЛРС) сырьём благодаря богатому составу биологически активных веществ (БАВ), включающему такие соединения как, флавоноиды, дубильные вещества, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты, витамины (А, С, Е). Флавоноиды в листьях представлены лютеолином, рутином, изорамнетином, нарциссином, стриктинином; дубильные вещества представлены гидролизуемыми танинами (галловая кислота, катехин, эпикатехин); жирные кислоты – линолевая, линоленовая; а среди аминокислот основными являются лизин, глутаминовая кислота, аргинин, пролин и др., в том числе незаменимые [1-2,4,8,11,14-16]. В то же время состав и содержание липофильной фракции БАВ в листьях (каротиноидов и хлорофиллов) изучено мало. Однако, следует учитывать, что активно изучаемые на предмет выявления различных видов фармакологической активности спирто-водные извлечения из листьев характеризуются многокомпонентным составом БАВ (в т.ч. присутствуют каротиноиды и хлорофиллы), а следовательно, и комплексным характером действия. Поэтому всестороннее изучение химического состава БАВ ЛРС является актуальной задачей.

Подводя итог вышеописанному, листья облепихи крушиновидной являются ценным и перспективным ЛРС с целью разработки лекарственных растительных препаратов (ЛРП) с различной фармакологической активностью и низкой токсичностью.

Цель исследования – разработать и валидировать спектрофотометрическую методику количественного определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной.

## Методика

Объект исследования – заготовленные на территории Воронежской области в 2022 году и высушенные воздушно-теневым способом до остаточной влажности не более 10% листья облепихи крушиновидной трёх фаз развития (I - фаза завязывания плодов, II – фаза единичного созревания плодов, III – фаза массового созревания плодов).

За основу была взята методика прямого спектрофотометрического определения хлорофиллов, каротиноидов и гидроксикоричных кислот в листьях крапивы двудомной, основанная на извлечении БАВ из сырья подходящим растворителем и измерении оптической плотности на спектрофотометре СФ-2000 в максимумах поглощения при длинах волн 442±2 нм (каротиноиды) и 667±3 нм (хлорофиллы) [13]. Валидация методики проведена в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV издания [3]. Статистическая обработка результатов проведена в Microsoft Excel 2016.

## Результаты исследования и их обсуждение

На начальном этапе методом ТСХ было установлено наличие в листьях облепихи каротиноидов и хлорофиллов. Идентифицированы такие соединения, как феофитин, ксантофиллы, хлорофилл b, хлорофилл a и β-каротин [7].

Электронные спектры (рис. 1) поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (РФ, ОКБ «Спектр», СПб) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм в диапазоне волн 400-800 нм. При изучении спектральных характеристик извлечений из листьев облепихи крушиновидной наблюдали основные максимумы поглощения в области 455±5 нм, характерные для каротиноидов (γ-каротин и другие фракции), и 667±3 нм, свойственные для хлорофилла.

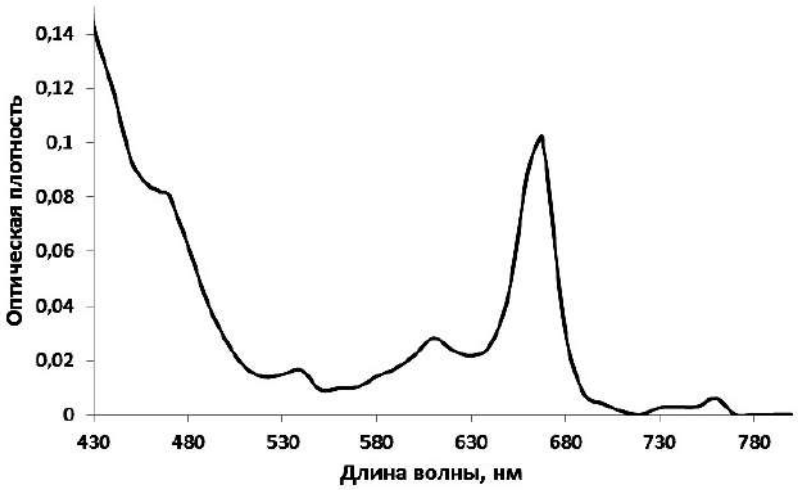



Рис. 1. Спектр поглощения спиртового извлечения из листьев облепихи крушиновидной

На начальном этапе нами осуществлён подбор степени измельчения листьев облепихи при экстракции спиртом этиловым 96% в течение 30 минут однократно. Согласно полученным результатам, наибольший выход каротиноидов и хлорофиллов отмечен для сырья со степенью измельчения 0,5-1,0 мм (табл. 1). Несмотря на максимальный выход этих соединений при степени измельчения 0,2 мм, использование данной фракции нецелесообразно в связи с необходимостью двух-трёхкратного фильтрования мутных извлечений. Даже в этом случае частицы сырья попадают в фильтрат, что приводит к увеличению значений оптической плотности и, как следствие, завышенным результатам содержания определяемых БАВ.

Таблица 1. Влияние степени измельчения листьев на выход каротиноидов и хлорофиллов в извлечение

| Фракции измельченного сырья, мм | Содержание каротиноидов, % | Содержание хлорофиллов, % |
|---|---|---|
| 3,0-2,0 | 0,021±0,00002 | 0,067±0,0002 |
| 2,0-1,0 | 0,039±0,00004 | 0,118±0,0004 |
| 1,0-0,5 | 0,047±0,00005 | 0,141±0,0005 |
| 0,5-0,2 | 0,044±0,00005 | 0,149±0,0041 |
| Менее 0,2 | 0,050±0,00005 | 0,159±0,0005 |

На следующем этапе разработки методики провели выбор экстрагента, который позволяет получить максимальный выход каротиноидов и хлорофиллов из сырья. Экстракцию осуществляли спиртом этиловым в концентрации 70 и 96% согласно рекомендациям литературы [13]. Установлено, что положения максимумов менялось незначительно, а наибольшее значение оптической плотности извлечения наблюдалось при использовании спирта этилового в концентрации 96%, что соответствует максимальному выходу хлорофиллов и каротиноидов (табл. 2).

Таблица 2. Влияние экстрагента на выход хлорофиллов и каротиноидов из листьев облепихи

| Экстрагент | Максимум поглощения каротиноидов, хлорофиллов нм | Выход каротиноидов, % | Выход хлорофиллов, % |
|---|---|---|---|
| Спирт этиловый 70% | 460±5<br>665±5 | 0,042±0,00005 | 0,102±0,0003 |
| Спирт этиловый 96% | 460±5<br>665±5 | 0,047±0,00005 | 0,141±0,0005 |

При выборе оптимального времени экстракции (рис. 2) были проанализированы пробы, собранные в 5 точках: после 30, 45, 60, 90 и 120 мин нагревания на водяной бане с обратным холодильником. В результате было установлено, что с увеличением длительности экстракции выход хлорофиллов и каротиноидов возрастал, достигая максимума при 45 мин., и далее снижался, выходя на плато после 60 мин.

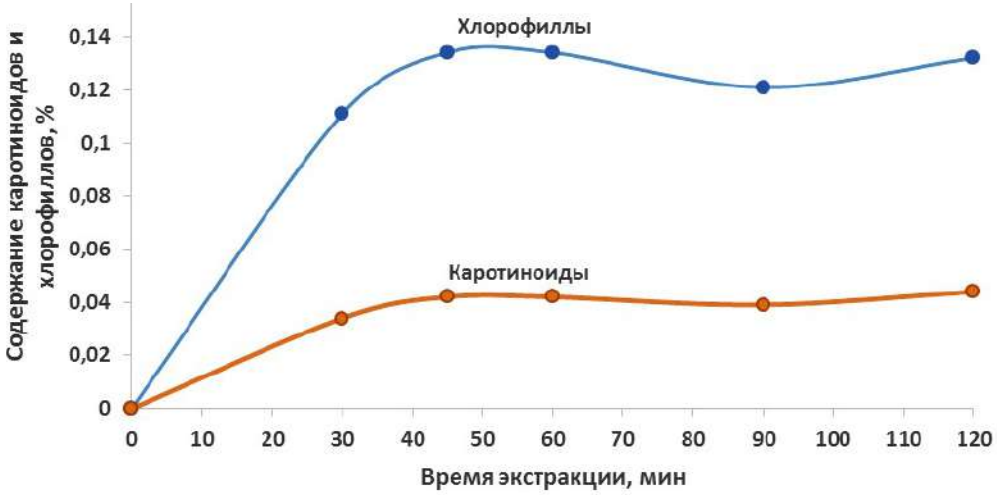



Рис. 2. Влияние времени экстракции на содержание каротиноидов и хлорофиллов в извлечении

Для установления полноты экстракции каротиноидов и хлорофиллов из листьев облепихи крушиновидной изучали влияние соотношения сырье-экстрагент (табл. 3). В результате установлено, что с увеличением объема экстрагента наблюдалось возрастание выхода каротиноидов и хлорофиллов и при соотношении 1:200 выход был максимальным (0,053% – каротиноиды, 0,167% – хлорофиллы). Дальнейшее увеличение объёма экстрагента является нецелесообразным, т.к. приведет к значительному удорожанию стоимости единицы продукции в связи с большим расходом экстрагента, не приводя к значительному росту выхода анализируемых БАВ.

Таблица 3. Влияние соотношения сырье-экстрагент на извлечение флавоноидов из листьев облепихи

| Соотношение сырье-экстрагент | Содержание каротиноидов, % | % увеличения выхода БАВ | Содержание хлорофиллов, % | % увеличения выхода БАВ |
|---|---|---|---|---|
| 1:25 | 0,027±0,00003 | 100 | 0,087±0,0003 | 100 |
| 1:50 | 0,036±0,00004 | +33,33 | 0,113±0,0004 | +29,89 |
| 1:100 | 0,042±0,00005 | +16,70 | 0,134±0,0004 | +18,58 |
| 1:150 | 0,050±0,00005 | +19,05 | 0,163±0,0005 | +21,64 |
| 1:200 | 0,053±0,00006 | +6,0 | 0,167±0,0006 | +2,45 |

При определении содержания каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной различных фаз развития (табл. 4) установлено, что наиболее богатой данными соединениями является фаза массового созревания плодов (III).

Таблица 4. Содержание каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной различных фаз вегетации

| Фенологическая фаза | Фенофаза I | Фенофаза II | Фенофаза III |
|---|---|---|---|
| Содержание каротиноидов, % | 0,050±0,0001 | 0,043±0,00005 | 0,070±0,00008 |
| Содержание хлорофиллов, % | 0,163±0,0005 | 0,123±0,0004 | 0,179±0,0006 |

На заключительном этапе осуществляли варьирование кратностью экстракции (одно-, двух- и трёхкратная экстракция). Результаты представлены в табл. 5. Согласно полученным данным, наибольший выход каротиноидов и хлорофиллов отмечен при двукратной экстракции.

Таблица 5. Влияние кратности экстракции на выход БАВ в извлечение

| Кратность | Содержание каротиноидов, % | Содержание хлорофиллов, % |
|---|---|---|
| 1 | 0,053±0,00006 | 0,167±0,0006 |
| 2 | 0,054±0,00006 | 0,177±0,0006 |
| 3 | 0,048±0,00005 | 0,159±0,0005 |

Большинство методик по определению БАВ в ЛРС предлагают использовать в качестве фильтрующего материала бумажный фильтр. С целью выявления влияния способа фильтрования проведена сравнительная оценка содержания каротиноидов и хлорофиллов в извлечениях при фильтрации через бумажный фильтр и через марлю (10 слоёв) (табл. 6). Установлено, что при использовании бумажного фильтра процесс более длителен (фильтрация одной порции при двукратной экстракции осуществляется 40-50 минут). При использовании марли наблюдается большее содержание БАВ в извлечениях (примерно на 30%). Предположительно, это объясняется тем, что в порах бумажного фильтра задерживаются балластные вещества высокомолекулярной структуры (слизи, полисахариды и др.), забивая поры и сорбирую на своей поверхности молекулы каротиноидов и хлорофиллов. На основании этого использование марли в качестве фильтрующего материала целесообразно.

Таблица 6. Влияние фильтрующего материала на выход БАВ в извлечение

| Кратность | Содержание каротиноидов, % | Содержание хлорофиллов, % |
|---|---|---|
| Бумажный фильтр | 0,054±0,00006 | 0,177±0,0006 |
| Марля (10 слоёв) | 0,096±0,0001 | 0,228±0,0008 |

Методика количественного определения: около 1,0 г (точная навеска) высушенных и измельчённых листьев до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, заливали 100 мл спирта этилового 70%об., взвешивали и в течение 45 минут проводили кипячение на водяной бане с обратным холодильником. По истечении времени колбу с экстрактом быстро охлаждали, доводили объём растворителя по массе до первоначального значения и фильтровали через 10 слоёв марли. Экстракцию повторяли второй порцией растворителя. Фильтраты объединяли в мерной колбе вместимостью 200 мл и доводили до метки тем же растворителем (раствор А). 10 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки тем же этанолом (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (Россия, СПб, ОКБ

«Спектр») при длинах волн 460±5 нм, характерных для каротиноидов, и 665±5 нм, характерных для хлорофиллов, в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно растворителя (спирт этиловый 70%об.). Содержание суммы каротиноидов (в пересчёте на β-каротин) и суммы хлорофиллов (в пересчёте на хлорофилл а) в процентах (X) в пересчёте на абсолютно сухое сырьё рассчитывали по формулам (1 и 2, соответственно):

$$X = \frac{A \times W_1 \times W_2 \times 100\% \times 100\%}{m \times E_{1\,см}^{1\%} \times 100 \times V_a \times (100\% - B\%)} = \frac{A \times 200 \times 25 \times 100 \times 100}{m \times 2500 \times 100 \times 10 \times (100 - B)} \quad (1)$$

$$X = \frac{A \times W_1 \times W_2 \times 100\% \times 100\%}{m \times E_{1\,см}^{1\%} \times 100 \times V_a \times (100\% - B\%)} = \frac{A \times 200 \times 25 \times 100 \times 100}{m \times 944{,}5 \times 100 \times 10 \times (100 - B)} \quad (2)$$

, где $A$ – оптическая плотность раствора Б в соответствующем максимуме поглощения; $m$ – масса сырья, г; $B$ – потеря в массе при высушивании сырья, %; $E_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения (2500 для β-каротин при 450±5 нм; 944,5 для хлорофилла при 663±5 нм); $W_1$ и $W_2$ – объёмы мерных колб, использованных для разведения, мл; $V_a$ – объём аликвоты, взятый на анализ, мл.

Проведена метрологическая оценка разработанной методики. Относительная ошибка единичного определения составляет 3,54% для хлорофиллов и 2,74% для каротиноидов (с доверительной вероятностью 95%), что свидетельствует о нахождении в пределах средней ошибки (до 5%) (табл. 7).

Таблица 7. Метрологическая характеристика методики определения каротиноидов (1) и хлорофиллов (2) (P=95%; n=7)

| БАВ | $x_{ср}$ | $S^2$ | S | $Sx_{ср}$ | Δx | $Δx_{ср}$ | ε, % | $ε_{ср}$, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,0957 | 0,00000115 | 0,00107 | 0,000404 | 0,00262 | 0,00099 | 2,738 | 1,034 |
| 2 | 0,228 | 0,0000108 | 0,00329 | 0,00124 | 0,00806 | 0,00304 | 3,535 | 1,333 |

Так как валидация является обязательным завершающим этапом разработки методики количественного определения, нами выполнена оценка методики по следующим критериям: прецизионность на уровне сходимости, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, аналитическая область методики, специфичность.

Специфичность методики оценивали по совпадению положения максимумов на спектрах поглощения индивидуальных хлорофиллов, каротиноидов (литературные данные) и исследуемого извлечения (рис. 1). Для хлорофилла а характерен узкий максимум поглощения, расположенный при 662 нм, а для β-каротина – широкий пологий максимум с плечом в диапазоне 450-455 нм [9].

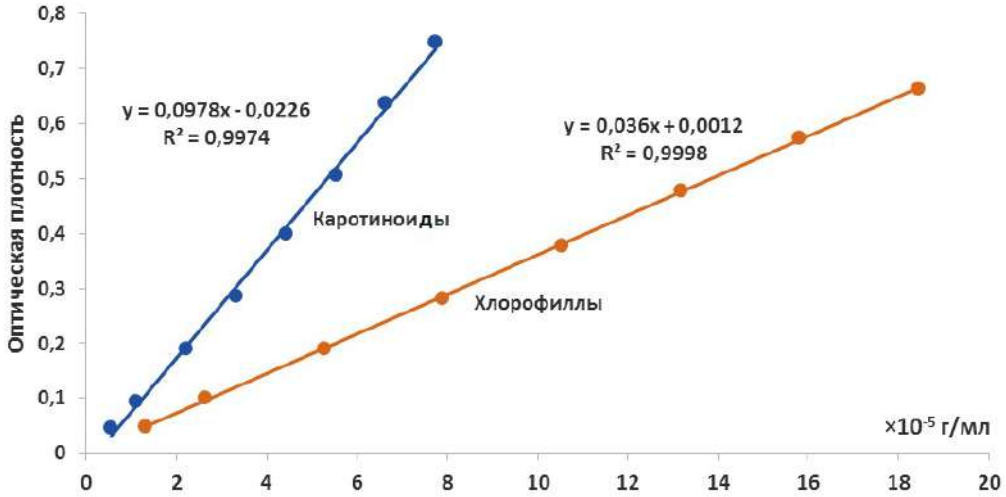



Рис. 3. График линейности методики

Линейность определяли на восьми уровнях концентраций. График, уравнение линейности и коэффициент аппроксимации представлены на рис. 3. Так как $R^2$ и по определению каротиноидов, и по определению хлорофиллов более 0,99, можно сделать вывод, что область линейности методики находится в диапазоне концентраций от 0,55 до 7,74×$10^{-5}$ г/мл (каротиноиды) и от 1,32 до 18,45×$10^{-5}$ г/мл (хлорофиллы). Предел обнаружения – 0,55 и 1,32×$10^{-5}$ г/мл каротиноидов и хлорофиллов данной методикой, соответственно. Аналитическая область методики составляет 80-

120% от номинальной величины (3,32-5,55×$10^{-5}$ г/мл для каротиноидов и 7,91-13,18×$10^{-5}$ г/мл для хлорофиллов). Предел количественного обнаружения каротиноидов по данной методике составляет 5,55×$10^{-5}$ г/мл, хлорофиллов – 15,81×$10^{-5}$ г/млПрецизионность оценивали на уровне сходимости путём получения семи независимых результатов в одной и той же лаборатории, одним и тем же исследователем по одной и той же методике с использованием того же оборудования за короткий промежуток времени. Результаты, полученные при статистической обработке, достоверны при доверительной вероятности 95% и свидетельствуют о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 8).

Таблица 8. Прецизионность методики определения каротиноидов и хлорофиллов (P=95%; n=7)

| Каротиноиды | | | Хлорофиллы | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Проба | Оптическая плотность | Содержание, % | Проба | Оптическая плотность | Содержание, % |
| 1 | 0,4497 | 0,0972 | 1 | 0,4058 | 0,232 |
| 2 | 0,4480 | 0,0969 | 2 | 0,4064 | 0,233 |
| 3 | 0,4440 | 0,0960 | 3 | 0,3978 | 0,228 |
| 4 | 0,4363 | 0,0943 | 4 | 0,3948 | 0,226 |
| 5 | 0,4408 | 0,0953 | 5 | 0,3976 | 0,228 |
| 6 | 0,4401 | 0,0951 | 6 | 0,3952 | 0,226 |
| 7 | 0,4390 | 0,0949 | 7 | 0,3915 | 0,224 |
| Наименьшее значение, % = 0,0943<br>Наибольшее значение, % = 0,0972<br>Среднее значение, % = 0,0957<br>Доверительный интервал (P=95%),<br>% = 0,0957±0,00262<br>Стандартное отклонение, % = 0,107<br>Коэффициент вариации, % = 1,118 | | | Наименьшее значение, % = 0,224<br>Наибольшее значение, % = 0,233<br>Среднее значение, % = 0,228<br>Доверительный интервал (P=95%),<br>% = 0,228±0,00806<br>Стандартное отклонение, % = 0,329<br>Коэффициент вариации, % = 1,443 | | |

В результате проведенных исследований в качестве критерия качества сырья по показателю «Количественное определение» можно предложить регламентировать содержание суммы каротиноидов, в пересчёте на β-каротин не менее 0,08% (80 мг%) и содержание суммы хлорофиллов – не менее 0,2%.

Для оценки перспективности листьев облепихи крушиновидной в качестве источника данных групп БАВ, интересным представлялось сравнить полученные экспериментальные результаты по содержанию каротиноидов и хлорофиллов в образцах листьев с литературными данными [5] по другим фармакопейным представителям лекарственных растений (табл. 9).

Таблица 9. Литературные данные по содержанию каротиноидов и хлорофиллов в образцах листьев других фармакопейных представителей лекарственных растений

| № | Название вида | Содержание хлорофиллов, % | Содержание каротиноидов, % |
|---|---|---|---|
| 1 | *Tanacetum achilleifolium* (M. Bieb.) Sch. Bip. | 0,652 | 0,108 |
| 2 | *Thymus marschallianus* Willd. | 0,584 | 0,104 |
| 3 | *Potentilla glaucescens* Schltdl. | 0,581 | 0,078 |
| 4 | *Salvia stepposa* Des.- Shost. | 0,469 | 0,119 |
| 5 | *Artemisia austriaca* Jacq. | 0,512 | 0,079 |
| 6 | *Centaurea turgaica* Klok. | 0,520 | 0,062 |
| 7 | *Fragaria viridis* (Duchesne) Weston | 0,450 | 0,111 |

## Заключение

Таким образом, разработана и валидирована методика количественного определения суммы каротиноидов (в пересчёте на β-каротин) и хлорофиллов методом спектрофотометрии в листьях облепихи крушиновидной, которая может быть использована для стандартизации данного ЛРС. В результате исследований установлено, что оптимальной степенью измельчения, при которой наблюдается максимальный выход каротиноидов и хлорофиллов из сырья, является фракция 0,5-1,0 мм, экстракцию рекомендовано проводить спиртом этиловым 70%об. при соотношении сырьё:

экстрагент 1:200 мл в течение 45 минут двухкратно. Наибольшее содержание определяемых соединений наблюдается в листьях фенологической фазы III (период заготовки – конец августа – начало сентября). Разработанная методика валидна и пригодна для спектрофотометрического определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях облепихи крушиновидной. Рекомендуемый срок заготовки листьев по содержанию изучаемых групп БАВ, в целом, совпадает со сроками сбора плодов, так как последние являются широко востребованным фармакопейным ЛРС. Листья на данном этапе развития могут быть использованы как самостоятельное ЛРС для получения ЛРП.

## Литература (References)


1. Абдыкаликова К.А., Нечипоренко Л.П. Фитохимический состав надземной части облепихи крушиновидной // Естественные науки. – 2008. – №4. – С. 104-107. [Abdykalikova K.A., Nechiporenko L.P. *Estestvennye nauki*. Natural sciences. – 2008. – N4. – P. 104-107. (in Russian)]
2. Айтуарова А.Ш., Жусупова Г.Е. Выделение биологически активных веществ из надземной части растения вида *Hippophae rhamnoides* L. и возможности их использования в медицине. // Вестник КазНМУ. – 2016. – №3. – С. 195-197. [Aituarova A.Sh., Zhusupova G.E. *Vestnik KazNMU*. Bulletin of KazNMU. – 2016. – N3. – P. 195-197. (in Russian)]
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. – URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 [*Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya*. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. – URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian)]
4. Ибрагимов З.Р., Гайтова Т.Р. Листья облепихи как источник БАВ // Актуальные проблемы химии, биологии и биотехнологии: материалы X всероссийской научной конференции: Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, 2016. – С. 323-325. [Ibragimov Z.R., Gaitova T.R. *Aktual'nye problemy khimii, biologii i biotekhnologii: materialy X vserossiiskoi nauchnoi konferentsii.* Actual problems of chemistry, biology and biotechnology: materials of the X All-Russian Scientific Conference: North Ossetian State University. K.L. Khetagurova, 2016. – P. 323-325. (in Russian)]
5. Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале // Физиология растений. – 2013. – Т.60, №6. – С. 856-864. [Ivanov L.A., Ivanova L.A., Ronzhina D.A., Yudina P.K. *Fiziologiya rastenii*. Plant Physiology. – 2013. – V.60, N6. – P. 856-864. (in Russian)]
6. Кароматов И.Д., Букаев М.К. Облепиха как адаптогенное, повышающее физическую силу лекарственное растение // Биология и интегративная медицина. – 2018. – №6. – С. 37-47. [Karomatov I.D., Bukaev M.K. *Biologiya i integrativnaya meditsina*. Biology and Integrative Medicine. – 2018. – N6. – P. 37-47. (in Russian)]
7. Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Сливкин А.И. Исследование состава пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) листьев облепихи крушиновидной методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2022. – Т.22, №3. – С. 284-298. – DOI 10.17308/sorpchrom.2022.22/9335. [Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Slivkin A.I. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. Sorption and chromatographic processes. – 2022. – V.22, N3. – P. 284-298. (in Russian)]
8. Кукина Т.П., Щербаков Д.Н., Геньш К.В. и др. Биоактивные комплексы древесной зелени облепихи *Hippophae rhamnoides* L. // Химия растительного сырья. – 2016. – №1. – С. 37-42. DOI: 10.14258/jcprm.2016011100. [Kukina T.P., Shcherbakov D.N., Gen'sh K.V. i dr. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of vegetable raw materials. – 2016. – N1. – P. 37-42. (in Russian)]
9. Кулешова Т.Э., Лихачев А.И., Павлова Е.С., Кулешов Д.О. и др. Взаимосвязь спектров поглощения пигментов растений и светодиодного освещения с различным спектральным составом // Журнал технической физики. – 2018. – Т.88, №9. – С. 1285-1289. [Kuleshova T.E., Likhachev A.I., Pavlova E.S., Kuleshov D.O. i dr. *Zhurnal tekhnicheskoi fiziki*. Journal of technical physics. – 2018. – V.88, N9. – P. 1285-1289. (in Russian)]
10. Мурзахметова М.К., Утегалиева Р.С., Аралбаева А.Н. и др. Исследование антиоксидантных и мембранопротекторных свойств экстрактов облепихи // Actualscience. – 2015. – Т.1, №5(5). – С. 26-28. [Murzakhmetova M.K., Utegalieva R.S., Aralbaeva A.N. i dr. *Actualscience*. Actualscience. – 2015. – V.1, N5(5). – P. 26-28. (in Russian)]
11. Нилова Л.П., Малютенкова С.М. Антиоксидантные комплексы облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) северо-запада России // Вестник ВГУИТ. – 2021. – Т.83, №1. – С. 108–114. doi:10.20914/2310-1202-2021-1-108-114. [Nilova L.P., Malyutenkova S.M. *Vestnik VGUIT*. Vestnik VSUIT. – 2021. – V.83, N1. – P. 108-114. (in Russian)]
12. Регистр лекарственных средств России. – URL: https://www.rlsnet.ru/ [*Registr lekarstvennykh sredstv Rossii*. Register of medicines of Russia. – URL: https://www.rlsnet.ru/ (in Russian)]

13. Тринеева О.В., Сливкин А.И., Сафонова Е.Ф. Определение гидрокискоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) // Химия растительного сырья. – 2015. – №3. – С.105-110. doi.org/10.14258/jcprm.201503522. [Trineeva O.V., Slivkin A.I., Safonova E.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of plant raw materials. – 2015. – N3. – P. 105-110. (in Russian)]
14. Фитохимическое исследование облепихи крушиновидной и лоха узколистного. // Лекарственные растения Северной Осетии семейства Elaeagnaceae: перспективы использования. – Владикавказ : Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, 2015. – С. 81-103. [*Lekarstvennye rasteniya Severnoi Osetii semeistva Elaeagnaceae: perspektivy ispol'zovaniya*. Medicinal plants of North Ossetia of the Elaeagnaceae family: prospects for use. - Vladikavkaz: North Ossetian State University. K.L. Khetagurova, 2015. – P. 81-103. (in Russian)]
15. Хасенова А.Б., Аралбаева А.Н., Утегалиева Р.С. и др. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) – источник биоактивных веществ // Вестник Алматинского технологического университета. – 2020. – №1. – С. 82-88. [Khasenova A.B., Aralbaeva A.N., Utegalieva R.S. i dr. *Vestnik Almatinskogo tekhnologicheskogo universiteta*. Bulletin of the Almaty Technological University. – 2020. – N1. – P. 82-88. (in Russian)]
16. Черняк Д.М., Титова М.С. Содержание каротина и витаминов Е и С в дальневосточных растениях. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – №2. – С. 92-93. [Chernyak D.M., Titova M.S. *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal*. Pacific Medical Journal. – 2015. – N2. – P. 92-93. (in Russian)]
17. Шейченко О.П., Толкачёв О.Н., Шевченко В.И. и др. Способ получения противовирусного препарата Гипорамина (варианты) // Патент РФ на изобретение №2197978. Опубликовано 10.02.2003. [Sheichenko O.P., Tolkachev O.N., Shevchenko V.I. i dr. *Sposob polucheniya protivovirusnogo preparata Giporamina (varianty)*. Method for producing the antiviral drug Hyporamine (options) // Patent of Russian Federation N2197978. Publication 10.02.2003. (in Russian)]
18. Geetha S., Sai Ram M., Mongia S.S., Singh V., Ilavazhagan G., Sawhney R.C. Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats // Journal of Ethnopharmacology. – 2003. – N87(2-3). – P. 247-251.
19. Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M. Advanced Research on the Antioxidant Activity and Mechanism of Polyphenols from Hippophae Species-A Review // Molecules. – 2020. – N25(4). – P. 917.
20. Saggu S., Divekar H.M., Gupta V., Sawhney R.C., Banerjee P.K., Kumar R. Adaptogenic and safety evaluation of seabuckthorn (Hippophae rhamnoides) leaf extract: a dose dependent study // Food Chemical Toxicology. – 2007. – N45(4). – P. 609-617.
21. Suryakumar G., Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) // Journal of Ethnopharmacology. – 2011. – N 138(2). – P. 268-278.
22. Upadhyay N., Gupta A. In vitro and dermal toxicity studies for Hippophae rhamnoides L. leaf extract // Toxicology Letters. – 2010. – N196. – P. 249.

**Информация об авторах**

*Ковалёва Наталья Александровна* – аспирант, преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: natali-sewer@yandex.ru

*Тринеева Ольга Валерьевна* – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: trineevaov@mail.ru

*Колотнева Анастасия Игоревна* – студентка фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: nastya.kolotneva.48@gmail.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.09.2023

Принята к печати 15.10.2023

*УДК 61:615:322* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.28 EDN: XIALEW*

# МЕТОДОЛОГИЯ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА В КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОЛИСАХАРИДОВ В КОРНЯХ КУПЕНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

**© Макарова Д.Ю., Новикова Е.К., Александрова Л.Ю.**

*Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14*

*Резюме*

**Цель.** Применение методологии поверхности отклика в количественном определении полисахаридов в корнях купены лекарственной для нахождения оптимальных гидромодуля и времени ультразвуковой экстракции.

**Методика.** Объектом исследования служат измельченные корни купены лекарственной (Polygonatum officinale), заготовленные в республике Крым; количественное определение полисахаридов проводится согласно ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» по методике с пикриновым реактивом; для нахождения оптимальных значений гидромодуля и времени ультразвуковой экстракции используется программное обеспечение для обработки статистических данных «Minitab»: на первом этапе создается план эксперимента, состоящий из 13 опытов, на втором этапе выводится регрессионная модель и устанавливается значимость каждого параметра, на третьем этапе оптимизируются полученные данные и определяется теоретический выход полисахаридов.

**Результаты.** Для наибольшего выхода полисахаридов найдены гидромодуль, равный 1:60, и время, равное 15 мин. Теоретический выход полисахаридов составляет 13,73 %, практический выход равен 13,86 %.

**Заключение.** Подобраны оптимальные значения гидромодуля и времени в количественном определении полисахаридов в корнях купены лекарственной благодаря методологии поверхности отклика.

*Ключевые слова:* методология поверхности отклика, полисахариды, корни купены лекарственной

# RESPONSE SURFACE METHODOLOGY IN THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF POLYSACCHARIDES IN THE ROOTS OF THE POLYGONATUM OFFICINALE

Makarova D.Yu., Novikova E.K., Alexandrova L.Yu.

*Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14, Professor Popov St., 197022, Saint-Petersburg, Russia*

*Abstract*

**Objective.** Application of the response surface methodology in the quantitative determination of polysaccharides in the roots of the Polygonatum officicnale to find the optimal hydromodule and time in ultrasonic extraction.

**Methods.** The object of the investigation is the crushed roots of the Polygonatum officinale harvested in the Republic of Crimea; quantitative determination of polysaccharides is carried out according to the OFS.1.2.3.0019.15 "Determination of sugars by spectrophotometric method" according to the method with picrin reagent; to find the optimal values of the hydromodule and the time of ultrasonic extraction, the software for processing statistical data "Minitab" is used: at the first stage, an experimental plan consisting of 13 experiments is created, at the second stage a regression model is derived and the significance of each parameter is established, at the third stage the obtained data are optimized and the theoretical yield of polysaccharides is determined.

**Results.** For the highest yield of polysaccharides, a hydromodule equal to 1:60 and a time equal to 15 minutes are found. The theoretical yield of polysaccharides is 13.73%, the practical yield is 13.86%.

**Conclusion.** The optimal values of the hydromodule and time in the quantitative determination of polysaccharides in the roots of Polygonatum officinale due to the methodology of the response surface are selected.

*Keywords:* response surface methodology, polysaccharides, the roots of the Polygomatum officinale

## Введение

Одним из перспективных направлений в фармацевтической отрасли является разработка растительных лекарственных препаратов в связи с их популярностью на российском рынке, ценой и доступностью [5]. Особенно востребованы у населения фитопрепараты для лечения заболеваний верхних дыхательных путей [1,6]. В связи с этим изучение качественного и количественного состава растений остается актуальным.

Купена лекарственная – многолетнее травянистое растение, принадлежащее к семейству Лилейные (Liliaceae). Купена растет и культивируется в умеренных и субтропических поясах Северного полушария, распространяется в России. Широко применяется в Китае в качестве функционального продукта питания и в традиционной медицине для лечения различных заболеваний [4,8]. Купена в своем составе содержит полисахариды, которые могут оказывать различных спектр фармакологических эффектов [3].

Полисахариды являются незаменимыми макромолекулами, которые существуют практически во всех живых формах и выполняют важнейшие функции у растения. Благодаря своим физико-химическим свойствам полисахариды подвержены изменениям, приводящим к улучшению параметров, что является базовой концепцией для их обширного применения в фармацевтической области [7]. Определение количественного состава полисахаридов можно проводить с применением методологии поверхности отклика, которая устанавливает зависимость между переменными.

## Методика

В качестве объекта исследования применялись корни купены лекарственной. Фракционный состав сырья представлен в табл. 1.

Таблица 1. Фракционный состав корней купены лекарственной

| Диаметр отверстий сита, через которые проходит сырье, мм | Содержание, % |
|---|---|
| 0,5 | 50 |
| 1 | 50 |

Определение содержания полисахаридов в сырье проводилось с использованием методики, описанной в ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом». В исследовании применяется метод, который основан на цветной реакции моносахаридов с пикриновой кислотой. Результатом реакции, представленной на рис. 1, является восстановление глюкозой группы $NO_2$ до $NH_2$ [2].

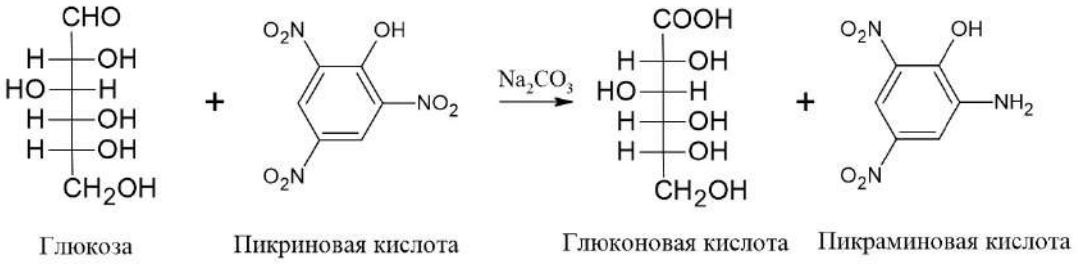



Рис. 1 Реакция глюкозы с пикриновой кислотой

Количественное определение полисахаридов проводилось следующим образом. Аналитическую пробу измельченных корней купены лекарственной массой 1,00 г экстрагируют в ультразвуковой ванне ПСБ-22. Полученное извлечение фильтруется через 5 слоев марли. Раствор перемещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки (раствор А). Аликвоту раствора А объемом 10,0 мл и 1 мл хлористоводородной кислоты нагревают в колбе в течение 30 мин, после чего с применением 40% раствора гидроксида натрия получают раствор с pH 4,0-4,5. Раствор помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки и фильтруют, отбрасывая первые 10-15 мл (раствор Б). К аликвоте раствора Б объемом 5,0 мл добавляют 2,5 мл 1% раствора пикриновой кислоты и 7,5 мл 20% раствора карбоната натрия и нагревают в течение 10 мин. Полученный раствор помещают в колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки (раствор В).

Для определения оптимальных гидромодуля и времени используется программное обеспечение для обработки статистических данных «Minitab». На первом этапе создается план эксперимента: подбираются всего 2 фактора (гидромодуль и время), поэтому необходимо выполнить 13 опытов. На втором этапе устанавливается зависимость содержания полисахаридов от изучаемых параметров. На третьем этапе оптимизируются экспериментальные данные и определяется теоретический выход полисахаридов.

## Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 представлены результаты количественного определения полисахаридов в соответствии с заданным паном эксперимента.

Таблица 2. Заданный план эксперимента

| № | Гидромодуль | Время, мин. | Содержание полисахаридов, % |
|---|---|---|---|
| 1 | 1:40 | 10 | 12,13 |
| 2 | 1:40 | 10 | 11,76 |
| 3 | 1:70 | 15 | 13,21 |
| 4 | 1:10 | 10 | 9,71 |
| 5 | 1:40 | 5 | 11,74 |
| 6 | 1:70 | 5 | 10,06 |
| 7 | 1:40 | 10 | 11,85 |
| 8 | 1:40 | 10 | 11,98 |
| 9 | 1:70 | 10 | 12,26 |
| 10 | 1:10 | 15 | 9,95 |
| 11 | 1:40 | 15 | 13,60 |
| 12 | 1:40 | 10 | 11,40 |
| 13 | 1:10 | 5 | 9,80 |

В соответствии с экспериментальными значения получена регрессионная модель, где А – значение гидромодуля, В – значение времени, ПСХ – выход полисахаридов. Коэффициент смешанной корреляции равен 93,16, что свидетельствует о сильной положительной линейной взаимосвязи между переменными.

$$ПСХ = 9{,}79 + 0{,}1045 \times A - 0{,}289 \times B - 0{,}001509 \times A^2 + 0{,}0131 \times B^2 + 0{,}00500 \times A \times B$$

Следующим этапом регрессионного анализа является рассмотрение значимости подбираемых параметров по отношению к зависимой переменной. В таблице 3 представлены значения Р-критерия для каждого параметра. Если Р-критерий <0,05, то заданные параметры влияют на выход полисахаридов.

Таблица 3. Значение Р-критерия

| Параметр | Р-критерий | Влияние на выход полисахаридов |
|---|---|---|
| Гидромодуль | 0,001 | + |
| Время | 0,002 | + |
| Гидромодуль×Гидромодуль | 0,001 | + |
| Время×Время | 0,252 | - |
| Гидромодуль×Время | 0,011 | - |

Исходя из табл. 3, можно отметить, что наибольший вклад оказывают переменные гидромодуль, время и гидромодуль×гидромодуль. Графически можно представить на диаграмме Парето (рис. 2).

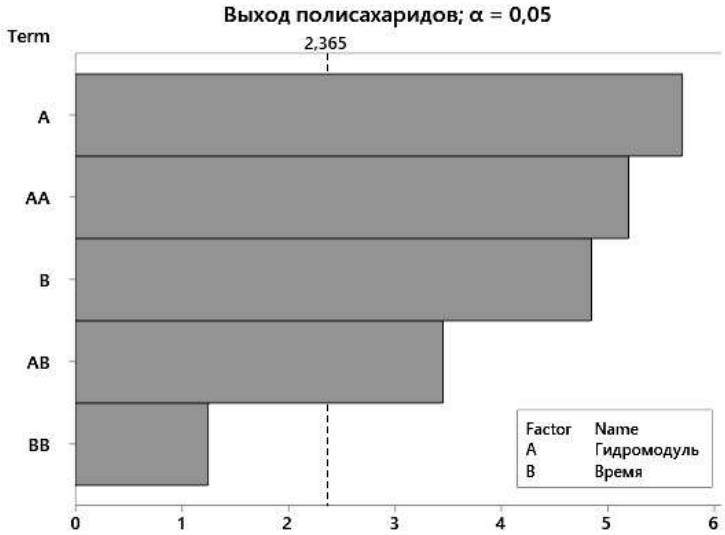



Рис. 2. Диаграмма Парето

Далее проведен анализ остатков (рис. 3), который позволяет оценить точность регрессионной модели. Интерпретация результатов анализа остатков представлена в табл. 4.

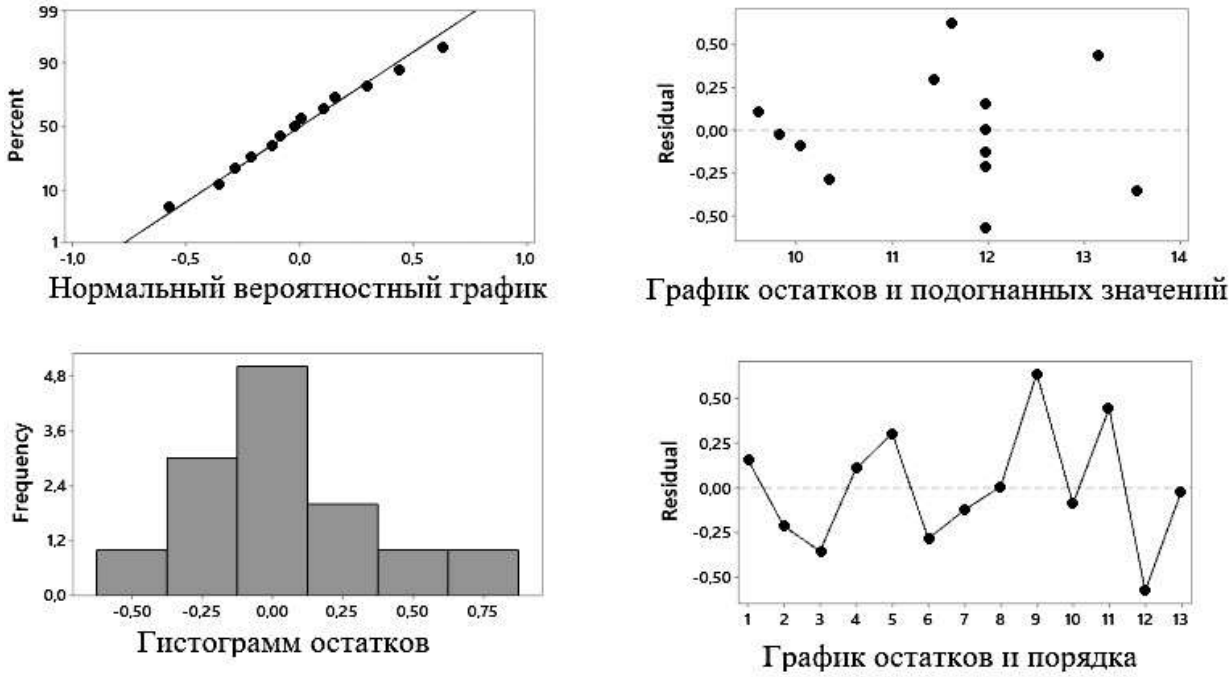



Рис. 3 Анализ остатков

Таблица 4. Интерпретация результатов анализа остатков

| График | Описание | Распределение |
|---|---|---|
| Нормальный вероятностный график | График приближен к прямой | Нормальное распределение |
| Гистограмма остатков | Гистограмма имеет форму «колокола» | Нормальное распределение |
| График остатков и подогнанных значений | Значения носят как положительный, так и отрицательный характер | Нормальное распределение |
| График остатков и порядка | График не носит «регулярного» поведения | Нормальное распределение |

Из табл. 4 следует, что регрессионная модель подчиняется нормальному распределению. На последнем этапе получены значения гидромодуля и времени, при которых достигается максимальный выход полисахаридов (табл. 5).

Таблица 5. Результаты планирования эксперимента

| Гидромодуль | Время | Теоретический выход, % | Практический выход, % |
|---|---|---|---|
| 1:60 | 15 | 13,73 | 13,86 |

## Вывод

Составлен план эксперимента подбора гидромодуля и времени в количественном определении полисахаридов. Проведен анализ полученной регрессионной модели. Подобраны значения гидромодуля, равного 1:60, и времени, равного 15 мин., и предсказан теоретический выход полисахаридов, который составляет 13,73%. Определен практический выход полисахаридов, равный 13,86%.

## Литература (references)


1. Бойко Н.Н., Бондарев А.В., Жилякова Е.Т. и др. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017. – Т.3, №4. – С. 30-38. [Bojko N.N., Bondarev A.V., Zhiljakova E.T. i dr. *Nauchnyj rezul'tat. Medicina i farmacija.* Scientific result. Medicine and pharmacy. – 2017. – T.3, N4. – P. 30-38. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. – Москва, 2023. [Gosudarstvennaija Farmacopeija RF XV. State Pharmacopoeia RF XV edition. – Moscow, 2023. (in Russian)]
3. Макарова Д.Ю., Новикова Е.К. Обнаружение полисахаридов в корнях Polygonatum officinale // XXVI Всероссийская конференция молодых учёных-химиков: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Нижний Новгород, 2023 – С. 484. [Makarova D.Yu., Novikova E.K. *HHVI Vserossijskaja konferencija molodyh uchjonyh-himikov: Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii*. XXVI All-Russian Conference of Young Chemists: Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference. – Nizhnij Novgorod, 2023 – P. 484. (in Russian)]
4. Макарова Д.Ю. Перспективы использования корней купены лекарственной // Молодая фармация – потенциал будущего: Материалы Всероссийской научной конференции школьников, студентов и аспирантов с международным участием. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 1095-1098. [Makarova D.Yu. *Molodaja farmacija – potencial budushhego: Materialy Vserossijskoj nauchnoj konferencii shkol'nikov, studentov i aspirantov s mezhdunarodnym uchastiem*. Young Pharmacy – the potential of the future: Materials of the All-Russian Scientific Conference of schoolchildren, Students and postgraduates with international participation – Sankt-Peterburg, 2023. – P. 1095-1098. (in Russian)]
5. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ганапольский В.П. и др. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т.15, №2. – С. 56-63. [Sambukova T.V., Ovchinnikov B.V., Ganapol'skij V.P. i dr. *Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. – 2017. – V.15, N2. – P. 56-63. (in Russian)]
6. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Шевчик Е.А. и др. Эффективность растительных лекарственных препаратов при лечении острых респираторных инфекций в реальной клинической практике // Consilium Medicum. – 2022. – 24(9). – С. 579-587. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Shevchik E.A. i dr. *Consilium Medicum*. – 2022. – 24(9). – P. 579-587. (in Russian)]
7. Mohammed A. S. A., Naveed M., Jost M. Polysaccharides; Classification, Chemical Properties, and Future Perspective Applications in Fields of Pharmacology and Biological Medicine (A Review of Current Applications and Upcoming Potentialities) // Journal of Polymers and the Environment. 11.10.2023 URL: https://www.researchgate.net/publication/348870060_Polysaccharides_Classification_Chemical_Properties_and_Future_Perspective_Applications_in_Fields_of_Pharmacology_and_Biological_Medicine_A_Review_of_Current_Applications_and_Upcoming_Potentialities
8. Zhao X., Li J. Chemical Constituents of the Genus Polygonatum and their Role in Medicinal Treatment // Natural Product Communications. – 2015. – V.10, N4. – P. 683-688.

**Информация об авторах**

*Макарова Дарья Юрьевна* – магистрант кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: makarova.darya@spcpu.ru

*Новикова Екатерина Константиновна* – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: ekaterina.krasova@pharminnotech.com

*Александрова Любовь Юрьевна* – старший преподаватель кафедры процессов и аппаратов химической технологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: lubov.aleksandrova@pharminnotech.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 615.322+615.072* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.29 EDN: XIHFNS*

# ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВ В АРОНИИ МИЧУРИНА ЛИСТЬЯХ

**© Пугачева О.В., Тринеева О.В., Панова К.Е.**

*Воронежский государственный университет, Россия, 394018, Воронеж, Университетская пл., 1*

*Резюме*

**Цель**. валидация спектрофотометрической методики количественного определения суммы антоцианов в аронии Мичурина листьях.

**Методика**. Объектом исследования служили высушенные листья аронии Мичурина сорта «Мулатка», собранные на территории Тамбовской области в 2022-2023 г.; сушка воздушно-теневая (влагосодержание не более 10%). Сырье собирали на четырех стадиях развития растения: фаза цветения, фаза начала плодоношения, фаза технической зрелости плодов, фаза начала покраснения листьев. Количественное определение антоцианов проводили с помощью разработанной спектрофотометрической методики в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид.

**Результаты**. Методика валидирована по показателям специфичность, линейность, правильность, сходимость и межлабораторная прецизионность и может быть использована для количественного определения антоцианов в листьях аронии Мичурина.

**Заключение**. С использованием валидированной методики установлено, что оптимальным сроком заготовки сырья для получения максимального выхода антоцианов является фаза начала покраснения листьев (сентябрь), на которой содержание антоцианов составляет 12,77%±0,95%. Высокое содержание антоцианов позволяет рассматривать аронии Мичурина листья как перспективный источник биологически активных веществ антиоксидантного характера с целью получения лекарственных препаратов на их основе. Полученные данные будут использованы для раздела «Количественное определение» проекта ФС на данное лекарственное растительное сырье. В качестве показателя для ФС «Аронии Мичурина листья» можно рекомендовать норматив содержания антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид не менее 5%.

*Ключевые слова*: арония Мичурина, рябина черноплодная, антоцианы, цианидин-3-О-глюкозид, количественное определение, спектрофотометрия, валидация

# VALIDATION OF A METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF ANTOCIANINS IN ARONIA MICHURINA LEAVES

Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Panova K.E.

*Voronezh State University, 1, Universitetskaya Pl., 394018, Voronezh, Russia*

*Abstract*

**Objective**. Validation of a spectrophotometric method for the quantitative determination of the total anthocyanins in Aronia Michurina leaves.

**Methods**. The object of the research was dried leaves of Aronia Michurina variety "Mulatka" collected on the territory of the Tambov region in 2022-2023; air-shadow drying (moisture content not more than 10%). Raw materials were collected at four stages of plant development: flowering phase, phase of the beginning of fruiting, phase of technical maturity of fruits, phase of the beginning of leaf reddening. Quantification of anthocyanins was made using the developed spectrophotometric technique in terms of cyanidin-3-O-glucoside.

**Results**. The methodology was validated for specificity, linearity, correctness, convergence and interlaboratory precision and can be used for quantitative determination of anthocyanins in Aronia Michurina leaves.

**Conclusions**. With the use of validated methodology, it was established that the optimal harvesting period for obtaining the maximum yield of anthocyanins is the phase of the beginning of leaf reddening

(September), at which the content of anthocyanins is 12,77%±0,95%. The high content of anthocyanins allows us to consider Aronia Michurina leaves as a perspective source of biologically active substances of antioxidant properties in purpose of obtaining medicinal preparations on their basis. The obtained data will be used for the chapter "Quantitative Determination" of the project PM for this medicinal plant raw material. The standard of anthocyanins content in terms of cyanidin-3-O-glucoside not less than 5% can be recommended as a parameter for the PM "Aronia Michurina leaves".

*Keywords*: Aronia mitschurinii, black chokeberry, anthocyanins, cyanidin-3-O-glucoside, quantification, spectrophotometry, validation

## Введение

Вещества-антоксиданты обеспечивают регуляцию оксидативного стресса, который является одним из механизмов развития многих заболеваний человека, в особенности заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. В настоящее время повышенное внимание уделяется исследованию антиоксидантной активности (АОА) растительного сырья. Это связано с более широким спектром действия и низкой токсичностью в сравнении с синтетическими препаратами [6]. Лекарственное растительное сырье (ЛРС), являющееся источником полифенолов и флавоноидов, наиболее часто рассматривается как источник антиоксидантов (АО) [6, 14, 21].

В том числе АОА обладают антоцианы – полифенольные пигменты растений. В зеленых частях растения они могут встречаться в форме бесцветных предшественников — лейкоантоцианов. Переход лейкоантоцианов в антоцианы происходит при сезонном изменении природных условий, а также в присутствии хлористоводородной кислоты [11]. Согласно литературным данным, употребление антоциансодержащих продуктов приводит к снижению рисков сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения, диабета, нейродегенеративных заболеваний и др. [9]. Таким образом, интерес к поиску и изучению новых перспективных источников антоцианов растительного происхождения в настоящее время высок.

Одним из таких источников является арония Мичурина или рябина черноплодная – широко культивируемый в нашей стране и ближнем зарубежье кустарник рода Арония, который является гибридом аронии черноплодной и рябины обыкновенной [20, 23].

Антоцианы считаются основной группой биологически активных веществ (БАВ) плодов всех представителей рода Арония. В них представлены производные цианидина: цианидин-3-О-глюкозид, цианидин-3-О-арабиноз, цианидин-3-О-галактозид и цианидин-3-О-ксилозид [15, 22], преобладающим из которых по ряду исследований является галактозид [4], хотя количественное определение проводится в пересчете на глюкозид [3, 10]. Кроме того, качественно в плодах были обнаружены пеларгонидин-3-арабинозид и пеларгонидин-3-галактозид [25].

Исследования состава БАВ листьев представителей рода Арония, в том числе и аронии Мичурина ограничены. Подтверждено присутствие в них флавоноидов, дубильных веществ, сапонинов, аскорбиновой кислоты [2, 17], а также антоцианов в лейкоформах [11, 18]. Существуют данные о присутствии в листьях аронии цианидин-3-галактозида и цианидин-3-арабинозида с преобладанием первого [24]. Представленные данные делают перспективным более глубокое изучение содержания в аронии Мичурина листьях антоциановых соединений.

На этапе предварительных исследований была разработана методика количественного спектрофотометрического определения антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид в листьях аронии Мичурина [18, 19].

Целью работы являлась валидация спектрофотометрической методики количественного определения суммы антоцианов в аронии Мичурина листьях, как завершающего этапа ее разработки и внедрения в нормативную документацию.

## Методика

Объектом исследования служили высушенные аронии Мичурина листья сорта «Мулатка», заготовленные от культивируемого растения в Тамбовской области в 2022-2023 г. Сушку проводили воздушно-теневым методом до остаточной влажности, не превышающей 10%. Валидацию проводили на сырье, заготовленном в сентябре 2022 г. С помощью валидированной методики определяли содержание антоцианов в листьях, заготовленных в 2023 г. на разных

стадиях развития растения: образец 1 – на стадии цветения, май (влагосодержание 9,12%); образец 2 – на стадии начала плодоношения, июнь (влагосодержание 9,16%); образец 3 – на стадии зрелости плодов, август (влагосодержание 9,48%); образец 4 – на стадии начала покраснения листьев, сентябрь (влагосодержание 9,52%).

Количественное определение проводили по следующей методике [18, 19]: около 0,2 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 0,5 мм, помещают в колбу со шлифом, вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 96% спирта этилового, подкисленного кислотой хлористоводородной до концентрации 1% и взвешивают. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 3,5 часов. Охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят подкисленным 96% этиловым спиртом до первоначальной массы. Охлажденную смесь фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

2 мл полученного излечения помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора экстрагентом до метки, перемешивают. В качестве раствора сравнения используют 96% спирт этиловый, подкисленный кислотой хлористоводородной до концентрации 1%. Определяют оптическую плотность в максимуме поглощения (рис. 1) при длине волны 540±2 нм. Измерения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия).

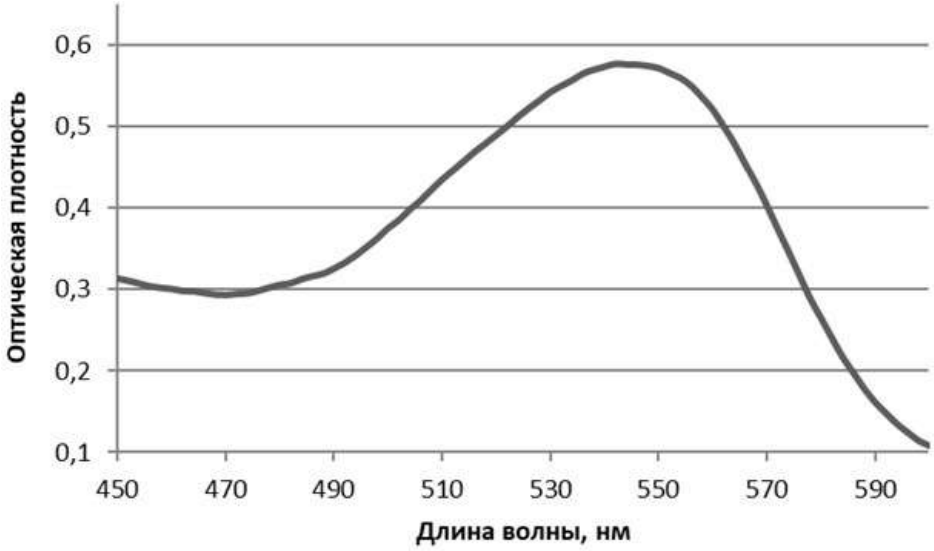



Рис. 1. Вид спектра поглощения извлечения из листьев аронии Мичурина, полученного с применением подкисленного спирта этилового 96%

Валидацию разработанной методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по показателям специфичности, правильности, линейности, сходимости, межлабораторной прецизионности [3]. Статистическая обработка результатов проведена в Microsoft Excel 2016.

## Результаты исследования и их обсуждение

Основные метрологические характеристики методики представлены в табл. 1. В качестве опорного значения при валидации принято содержание 9,82±0,4% в сырье.

Таблица 1. Метрологические характеристики спектрофотометрического определения антоцианов в листьях аронии Мичурина (P=95%, t (P, f)=2,57)

| $\bar{x}$,% | n | f | $s^2$ | $s$ | $s_{\bar{0}}$ | S,% | Δx | $\Delta\bar{x}$ | $\bar{\varepsilon}$,% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9,82 | 6 | 5 | 0,13 | 0,39 | 0,16 | 1,60 | 0,99 | 0,40 | 4,11 |

Специфичность методики оценивали по совпадению положения максимумов на спектрах поглощения индивидуального цианидин-3-О-глюкозида (литературные данные) и исследуемого извлечения (рис. 1). Для цианидин-3-О-глюкозида характерен широкий пологий максимум поглощения, расположенный при 540±2 нм [3].

Линейность подтверждали путем приготовления растворов, отбирая извлечение в диапазоне от 70 до 130% номинального значения (табл. 2).

Таблица 2. Схема разбавления извлечения для определения линейности методики

| Концентрация, % от исходного | Объем извлечения, мл | Объем разведения, мл |
|---|---|---|
| 70% | 2,1 | 25 |
| 80% | 2,4 | 25 |
| 90% | 2,7 | 25 |
| 100% | 3,0 | 25 |
| 110% | 3,3 | 25 |
| 120% | 3,6 | 25 |
| 130% | 3,9 | 25 |

Зависимость оптической плотности от содержания суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид линейна, что отражено на рис. 2 и подтверждается значением коэффициента корреляции, близким к 1,0.

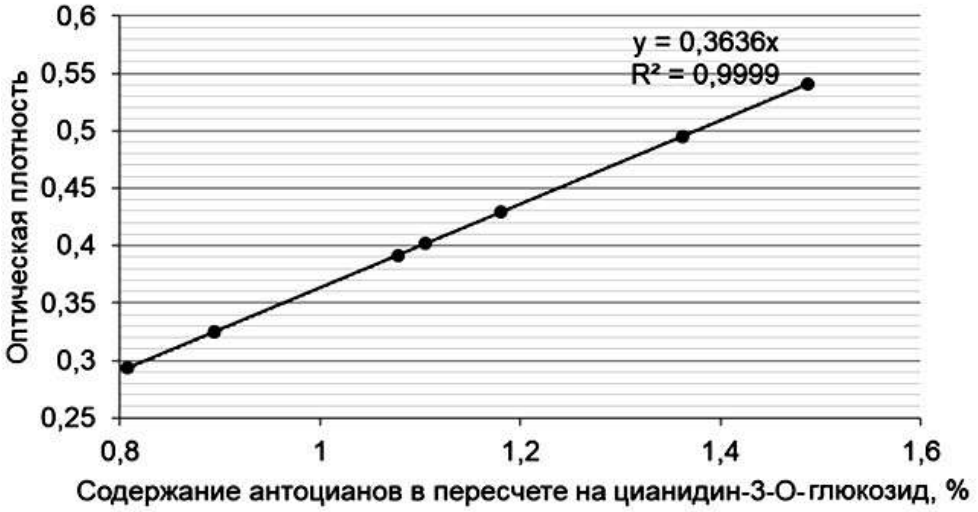



Рис. 2. График линейной зависимости оптической плотности от содержания антоцианов в извлечении в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид

Сходимость методики определялась в шести повторениях одним исполнителем. Межлабораторную прецизионность подтверждали проведением измерения разными исполнителями в разные дни в шести повторениях каждый. Результаты приведены в табл. 3. Относительные стандартные отклонения не превысили критериев приемлемости в 5%.

Правильность методики считается доказанной, если свободный член уравнения линейности меньше своего доверительного интервала. В нашем случае свободный член равен нулю.

Таким образом, было доказано, что разработанная методика валидна и, как следствие, может использоваться для определения содержания антоцианов в листьях аронии Мичурина для цели их стандартизации.

С помощью валидированной методики определяли оптимальные сроки заготовки аронии Мичурина листьев, обеспечивающие максимальное содержание антоцианов в них (табл. 4).

Согласно полученным данным, содержание антоцианов в листьях аронии Мичурина достаточно высоко во все периоды заготовки. Максимальным оно является в сырье, заготовленном на стадии начала покраснения листьев в сентябре 12,77%±0,95% (фаза начала покраснения листьев).

Литературные данные о результатах исследования содержания антоцианов в листьях рябины черноплодной также подтверждают, что при заготовке сырья в осенний период уровень антоцианов выше [11].

Таблица 3. Валидационные характеристики методики определения антоцианов в аронии Мичурина листьях

| Характеристика | Статистическая характеристика | Результат | |
|---|---|---|---|
| Сходимость | Проба | Содержание суммы антоцианов, % | |
| | 1 | 9,60 | |
| | 2 | 9,72 | |
| | 3 | 9,21 | |
| | 4 | 10,16 | |
| | 5 | 10,02 | |
| | 6 | 10,20 | |
| | Доверительный интервал (P=95%), % | 9,82±0,40 | |
| | Относительное стандартное отклонение (RSD), % | 1,60 | |
| | Стандартное отклонение (SD), % | 0,42 | |
| Меж-лабораторная прецизионность | Проба | Исследователь 1 (день 1) | Исследователь 2 (день 2) |
| | 1 | 9,21 | 8,01 |
| | 2 | 9,60 | 8,12 |
| | 3 | 9,72 | 8,18 |
| | 4 | 10,16 | 8,53 |
| | 5 | 10,02 | 8,93 |
| | 6 | 10,20 | 8,97 |
| | Доверительный интервал (P=95%), % | 9,17±1,42 | |
| | Относительное стандартное отклонение (RSD), % | 2,90 | |
| | Стандартное отклонение (SD), % | 0,92 | |

Таблица 4. Содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид в листьях аронии Мичурина различных сроков заготовки

| Фаза сбора | Содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид, % |
|---|---|
| май | 10,71±1,33 |
| июнь | 10,81±1,01 |
| август | 11,62±0,69 |
| сентябрь | 12,77±0,95 |

Известно, что на содержание антоцианов в ЛРС значительно влияют регион произрастания, особенности культивирования, загрязненность почвы, а также совокупность погодных условий за период вегетации растения в разные годы [8, 13]. Для оценки влияния данных факторов на накопление изучаемых БАВ в листьях провели определение в ЛРС 2022 и 2023 гг. заготовки (табл. 5). Результаты отражены на рис. 3. Информация о погодных условиях заимствована с официального сайта www.pogodaiklimat.ru (дата обращения октябрь 2023 г).

Таблица 5. Содержание антоциановых соединений в листьях различных годов заготовки

| № п/п | Погодные условия | 2022 г. | 2023 г. |
|---|---|---|---|
| 1 | Количество осадков (суммарно с мая по сентябрь) | 344 мм | 183 мм |
| 2 | Средняя температура:<br>Июнь;<br>Июль;<br>Август;<br>За 3 месяца | <br>19,5<br>20,8<br>23,0<br>21,1 | <br>17,0<br>19,8<br>21,0<br>19,3 |
| 3 | Количество солнечных дней (суммарно с мая по сентябрь) | 11 | 19 |
| 4 | Тип почв | Чернозём | Чернозём |

Накоплению лейкоантоцианов в листьях способствует увеличение количества солнечных дней за период вегетации. Снижение среднесуточной температуры и количества осадков, по всей видимости, оказывает стимулирующий эффект на процессы биосинтеза данной группы БАВ в качестве защитной реакции растительного организма на ухудшающиеся факторы окружающей среды. Однако, данные результаты нуждаются в дополнительных подтверждающих исследованиях

Высокое содержание антоцианов в исследуемом сырье подтверждает перспективность использования его для получения препаратов с АОА.

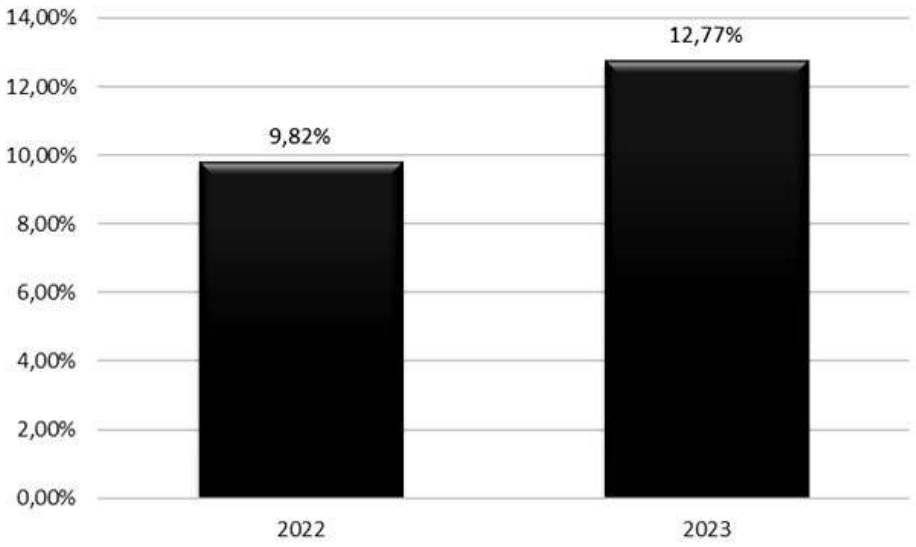



Рис. 3. Содержание антоциановых соединений в листьях аронии Мичурина (фаза заготовки – сентябрь)

Согласно данным рис. 3, при разработке раздела «Количественное определение» проекта ФС «Аронии Мичурина листья» для ГФ РФ, следует рекомендовать числовое значение данного критерия не менее 5%.

Сравнительно с другими видами растительного сырья содержание антоцианов сопоставимо или выше (табл. 6) [3, 5, 7, 12, 26].

Таблица 6. Результаты анализа литературных данных о содержании антоцианов в растительных источниках в пересчете на цианидин-3-глюкозид

| Растительный источник | Содержание антоцианов, % |
|---|---|
| Рябины черноплодной плоды | 0,98-3,70 |
| Аронии черноплодной плоды свежие | Не менее 4 |
| Аронии черноплодной плоды сухие | Не менее 3 |
| Василька синего цветки | Не менее 0,6* |
| Черники обыкновенной плоды | Не менее 0,5 |
| Бузины канадской плоды | 1,77-2,43 |
| Черной смородины плоды | 5,86-6,44 |
| Черемухи виргинсой плоды | 7,30-10,40 |

Примечание: * – в пересчете на цианидин-3,5-дигликозид

## Заключение

В работе подтверждено, что ранее разработанная методика спектрофотометрического определения антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид в аронии Мичурина листьях валидна и может использоваться для цели их стандартизации.

С применением разработанной методики определено, что оптимальным сроком заготовки сырья для обеспечения максимального выхода антоцианов является сентябрь. Содержание изучаемой группы БАВ сопоставимо или выше, чем в других, в том числе фармакопейных видов растительного сырья – источников антоцианов.

Изучение вариабельности накопления антоцианов в сырье свидетельствует о том, что в качестве числового значения показателя содержания антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид для ФС «Аронии Мичурина листья» можно рекомендовать норматив не менее 5%. Полученные

результаты количественного содержания антоцианов в аронии Мичурина листьях показывает перспективность использования данного сырья как источника БАВ с целью дальнейшего получения лекарственных растительных препаратов с АОА.

## Литература (references)


1. Белова Ю.А., Котов С.В. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении больных с ишемическим инсультом в остром и восстановительном периоде // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2023. – Т.15, №2. – С. 120-125. [Belova Yu.A., Kotov S.V. *Antioksidantnaya terapiya v kompleksnom lechenii bol'nykh s ishemicheskim insul'tom v ostrom i vosstanovitel'nom periode*. Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. – 2023. – V.15, N2. – P. 120-125. (in Russian)]
2. Брежнева Т.А., Недолужко Е.И., Логвинова Е.Е. и др.. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2018. –№2. – С. 306-311. [Brezhneva T.A., Nedoluzhko E.I., Logvinova E.E. i dr.. *Izuchenie biologicheski aktivnykh veshchestv list'ev ryabiny chernoplodnoi*. Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2018. – N2. – P. 306-311. (in Russian)]
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. – URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 [Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. – URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian)]
4. Дейнека В.И., М.Ю. Третьяков, Е.Ю. Олейниц и др. Определение антоцианов и хлорогеновых кислот в плодах рода арония: опыт хемосистематики // Химия растительного сырья. – 2019. – №2. – С. 161-167. [Deineka V.I., M.Yu. Tret'yakov, E.Yu. Oleinits i dr. *Opredelenie antotsianov i khlorogenovykh kislot v plodakh roda aroniya: opyt khemosistematiki*. Chemistry of plant raw material. – 2019. – N2. – P. 161-167. (in Russian)]
5. Егорова А.В., Куркин В.А., Каримова А.М. Изучение возможностей комплексного использования плодов черной смородины (Ribes nigrum L.) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т.14, №1(9). – С. 2215-2217. [Egorova A.V., Kurkin V.A., Karimova A.M. *Izuchenie vozmozhnostei kompleksnogo ispol'zovaniya plodov chernoi smorodiny (Ribes nigrum L.).* Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2012. – V.14, N1(9). – P. 2215-2217. (in Russian)]
6. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – №1(5). – С. 20-27. [Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M. *Flavonoidy kak perspektivnye prirodnye antioksidanty*. Bulletin of Medical Science. – 2017. – N1(5). – P. 20-27. (in Russian)]
7. Зульфугарова М.Б., Новзуров Э.Н. Состав и содержание антоцианов плодов Sambucus ebulus L // Химия растительного сырья. – 2017. – №1. – С. 163-167. [Zul'fugarova M.B., Novzurov E.N. *Sostav i soderzhanie antotsianov plodov Sambucus ebulus L.* Chemistry of plant raw material. – 2017. – N1. – P. 163-167. (in Russian)]
8. Карпова Е.А., Фершалова Т.Д. Динамика содержания пигментов в листьях Begonia grandis Dryander subsp. Grandis при интродукции в Западной Сибири (г Новосибирск) // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2016. – №1(33). – С. 140-158. [Karpova E.A., Fershalova T.D. *Dinamika soderzhaniya pigmentov v list'yakh Begonia grandis Dryander subsp. Grandis pri introduktsii v Zapadnoi Sibiri (g Novosibirsk).* Tomsk State University Journal of Biology. – 2016. – N1(33). – P. 140-158. (in Russian)]
9. Колдаев В.М., Кропотов А.В. Антоцианы в практической медицине // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2021. – №3. – С. 24-28. [Koldaev V.M., Kropotov A.V. *Antotsiany v prakticheskoi meditsine*. Pacific Medical Journal. – 2021. – N3. – P. 24-28. (in Russian)]
10. Куркин В.А., Егорова А.В. Стандартизация плодов аронии черноплодной // Фармация. – 2012. – №7. – С. 10-13. [Kurkin V.A., Egorova A.V. *Standartizatsiya plodov aronii chernoplodnoi*. Pharmacy – 2012. – N7. – P. 10-13. (in Russian)]
11. Логвинова Е.Е., Брежнева Т.А., Сливкин А.И., Недолужко Е.И. Выбор оптимальных условий извлечения антоциановых соединений листьев рябины черноплодной // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2016. – №4. – С. 142-146. [Logvinova E.E., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., Nedoluzhko E.I. *Vybor optimal'nykh uslovii izvlecheniya antotsianovykh soedinenii list'ev ryabiny chernoplodnoi*. Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2016. – N4. – P. 142-146. (in Russian)]
12. Логвинова Е.Е., Брежнева Т.А., Самылина И.А., Сливкин А.И. Исследование химического состава плодов аронии различных сортов // Фармация. – 2015. – №6. – С. 22- 26. [Logvinova E.E., Brezhneva T.A., Samylina I.A., Slivkin A.I. *Issledovanie khimicheskogo sostava plodov aronii razlichnykh sortov*. Pharmacy – 2015. – N6. – P. 22-26. (in Russian)]

13. Масленников П.В. Экологические аспекты накопления антоциановых пигментов в растениях: Автореф. дис. …канд. экол. наук. – Калининград, 2003. – 25 с. [Maslennikov P.V. *Ekologicheskie aspekty nakopleniya antotsianovykh pigmentov v rasteniyakh (kand. dis.).* Ecological aspects of anthocyanin pigments accumulation in plants (Author's Abstract of Candidate Thesis). – Kaliningrad, 2003. – 25 p. (in Russian)]
14. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н. и др. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в лекарственных растениях Калининградской области // Химия растительного сырья. - 2012. – №3. – С. 127-133. [Maslennikov P.V., Chupakhina G.N., Skrypnik L.N. i dr. *Soderzhanie nizkomolekulyarnykh antioksidantov v lekarstvennykh rasteniyakh Kaliningradskoi oblasti.* Chemistry of plant raw material. – 2012. – N3. – P. 127-133. (in Russian)]
15. Мирович В.М., Посохина А.А., Костенко Е.С., Иванкина Н.Г. Химический состав и анатомо-диагностические признаки плодов аронии черноплодной (Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott.), культивируемой в Прибайкалье // Инновационные технологии в фармации : Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Инновационные технологии в фармации", посвящённая 100-летию со дня образования иркутского государственного медицинского университета. Иркутск, 14-15 июня 2019 г. / Под ред. Е.Г. Приваловой – Иркутск, 2019. – С. 274-277. [Mirovich V.M., Posokhina A.A., Kostenko E.S., Ivankina N.G. *Innovatsionnye tekhnologii v farmatsii : Sbornik nauchnykh trudov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii c mezhdunarodnym uchastiem "Innovatsionnye tekhnologii v farmatsii", posvyashchennaya 100-letiyu so dnya obrazovaniya irkutskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta / Pod red. E. G. Privalovoi.* Innovative Technologies in Pharmacy : Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation "Innovative Technologies in Pharmacy" dedicated to the 100th Anniversary of Irkutsk State Medical University / Ed. E.G. Privalova. – Irkutsk, 2019. – P. 274-277. (in Russian)]
16. Михайлова И.В., Винокурова Н.В., Кузьмичева Н.А. и др. Черемуха виргинская как источник биологически активных веществ // Оренбургский медицинский вестник. – 2020. – Т.8, №3(31). – С. 40-45. [Mikhailova I.V., Vinokurova N.V., Kuz'micheva N.A. i dr. *Cheremukha virginskaya kak istochnik biologicheski aktivnykh veshchestv.* Orenburg Medical Bulletin. – 2020. – V.8, N3 (31). – P. 40-45. (in Russian)]
17. Недолужко Е.И., Брежнева Т.А., Логвинова Е.Е. и др. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной // Университетская наука: взгляд в будущее. Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета. Курск, 2 февраля 2018 г. / Под ред. В.А. Лазаренко – Курск, 2018. – С. 74-77. [Nedoluzhko E.I., Brezhneva T.A., Logvinova E.E. i dr. *Universitetskaya nauka: vzglyad v budushchee. Sbornik nauchnykh trudov po materialam Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 83-letiyu Kurskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta / Pod red. V.A. Lazarenko*. University science: a look into the future. Collection of scientific papers on the materials of the International Scientific Conference dedicated to the 83rd anniversary of Kursk State Medical University / Ed. V.A. Lazarenko – Kursk, 2019. – P. 74-77. (in Russian)]
18. Пугачева О.В., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Выбор условий определения антоцианов в листьях рябины черноплодной // Инновационное развитие экономики : Материалы второго Крымского инновационного форума, Симферополь – Алушта, 25 июня – 18 сентября 2020 г. – Симферополь, 2020. – С. 96-98. [Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. *Innovatsionnoe razvitie ekonomiki : Materialy vtorogo Krymskogo innovatsionnogo foruma.* Innovative economic development : Proceedings of the Second Crimean Innovation Forum. – Simferopol, 2020. – P. 96-98. (in Russian)]
19. Пугачева О.В., Тринеева О.В., Панова К.Е. Количественное определение антоцианов в листьях аронии Мичурина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2023». Воронеж, 28-29 сентября 2023 г. / Под. ред. А.С. Беленовой, А.А. Гудковой, Н.А. Дьяковой. – Воронеж, 2023. – С. 356-359. [Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Panova K.E. *Puti i formy sovershenstvovaniya farmatsevticheskogo obrazovaniya. Aktual'nye voprosy razrabotki i issledovaniya novykh lekarstvennykh sredstv: Sbornik trudov 9-oi Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii «Farmobrazovanie-2023» / Pod. red. A.S. Belenovoi, A.A. Gudkovoi, N.A. D'yakovoi.* Ways and forms of improving pharmaceutical education. Actual issues of development and research of new drugs: Proceedings of the 9th International Scientific and Methodological Conference "Pharmobrazovanie-2023". / Ed. A.S. Belenova, A.A. Gudkova, N.A. Dyakova – Voronezh, 2020. – P. 356-359. (in Russian)]
20. Скворцов А.К., Майтулина Ю.К., Горбунов Ю.Н. О месте, времени и возможном механизме возникновения культурной черноплодной аронии // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – 1983. – Т.88, №3. – С. 88-96. [Skvortsov A.K., Maitulina Yu.K., Gorbunov Yu.N. *O meste, vremeni i vozmozhnom mekhanizme vozniknoveniya kul'turnoi chernoplodnoi aronii*. Bulletin of the Moscow Society of Nature Researchers. Biological Department – 1983. – V.88, N3. – P. 88-96. (in Russian)]
21. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных

средств. – 2017. – №4. – С. 180-197. [Trineeva O.V. *Metody opredeleniya antioksidantnoi aktivnosti ob"ektov rastitel'nogo i sinteticheskogo proiskhozhdeniya v farmatsii (obzor)*. Drug development & registration. – 2017. – N4. – P. 180-197. (in Russian)]

22. Lee J.E., Kim G.S., Park S. et al Determination of chokeberry (Aronia melanocarpa) polyphenol components using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Overall contribution to antioxidant activity // Food Chemistry. – 2014. – V.146. – P. 1-5.
23. Peter J.L., Mark H.B., Bryan A.C. et al. Investigation of the Origin of Aronia mitschurinii using Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis // HortScience. – 2019. – V.48, N5. – P. 520-524.
24. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P. et al. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. ×prunifolia and their antioxidant activities // European Food Research and Technology. – 2017. – V.243. – P. 1645-1657.
25. Wu X., Gu L., Ronald L.P. et al. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – V.52, N26. – P. 7846-7856.

**Информация об авторах**

*Ковалёва Наталья Александровна* – аспирант 2 года обучения, преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: natali-sewer@yandex.ru

*Тринеева Ольга Валерьевна* – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: trineevaov@mail.ru

Колотнева Анастасия Игоревна – студентка 5 курса фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: nastya.kolotneva.48@gmail.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.10.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 615.012:615.07:615.451:615.322* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.30 EDN: XLFKVU*

# РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЙКИ НА ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

**© Шмыгарева А.А.[1], Куркин В.А.[2], Лабковская М.В.[1], Дорохина О.А.[1], Кочукова А.А.[1]**

[1]*Оренбургский государственный медицинский университет, Россия, 460014, Оренбург, Советская ул., 6*

[2]*Самарский государственный медицинский университет, Россия, 443099, Самара, Чапаевская ул., 89*

*Резюме*

**Цель.** Разработка способа получения настойки на основе лекарственного растительного сырья с максимальным выходом действующих веществ и последующей стандартизацией.

**Методика.** Для достижения обозначенной цели осуществляли выбор методики получения с корреляцией концентрации экстрагента и времени экстракции; разработку методик стандартизации настойки. В качестве объектов исследования использовали листья березы повислой, траву хвоща полевого, траву горца почечуйного и траву зверобоя продырявленного в соотношении 30:25:25:25, с размером частиц, проходящих сквозь сито диаметром 0,5 мм. Тонкослойную хроматографию и спектрофотометрию применяли для стандартизации полученной настойки.

**Результаты.** Проведен качественный анализ настойки с использованием тонкослойной хроматографии для обнаружениия основных действующих веществ, а также количественный анализ спектрофотометрическим методом. При этом определено, что содержание флавоноидов в настойке составляет 0,46±0,01% (в пересчете на авикулярин).

**Заключение.** В результате проведенных исследований предложен метод вакуумной экстракции с последующим воздействием ультразвука, подобраны оптимальные условия экстрагирования с максимальным выходом флавоноидов из сырья.

*Ключевые слова:* спектрофотомерия, горец птичий, береза повислая, хвощ полевой, зверобой продырявленный

# DEVELOPMENT OF METHODS FOR OBTAINING AND STANDARDIZING TINCTURES BASED ON MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS

Shmygareva A.A.[1], Kurkin V.A.[2], Labkovskay M.V.[1], Dorokhin O.A.[1], Kochukova A.A.[1]

[1]*Orenburg State Medical Academy, Soviet St., 6, 460014, Orenburg, Russia*

[2]*Samara State Medical University, Chapaevskaya St., 89, 443099, Samara, Russia*

*Abstract*

**Objective.** Development of a method for obtaining tinctures based on medicinal plant raw materials with maximum yield of active substances and subsequent standardization.

**Methods.** In order to achieve this goal, the selection of a method for obtaining a correlation between the concentration of the extractant and the extraction time was carried out; the development of methods for standardizing the tincture. As the objects of the study, the leaves of the hanging birch, the grass of the horsetail, the grass of the mountaineer and the herb of St. John's wort were used in a ratio of 30:25:25:25, with the size of particles passing through a sieve with a diameter of 0.5 mm. Thin-layer chromatography and spectrophotometry were used to standardize the resulting tincture.

**Results.** A qualitative analysis of the tincture was carried out using thin-layer chromatography to detect the main active substances, as well as quantitative analysis by spectrophotometric method. At the same time, it was determined that the content of flavonoids in the tincture is 0.46±0.01% (in terms of avicularin).

**Conclusion.** As a result of the conducted research, a method of vacuum extraction with subsequent exposure to ultrasound was proposed, optimal extraction conditions were selected

*Keywords*: spectrophotometry, bird highlander, hanging birch, horsetail

## Введение

На сегодняшний день урология является динамично развивающейся областью медицины, связано это с ростом заболеваемости мочеполовой системы. Наиболее распространенными являются воспалительные процессы как бактериального, так и не бактериального происхождения [12]. Фитопрепараты могут стать препаратами выбора в данном случае, так как фармацевтический рынок урологических препаратов России минимален и остается актуальным вопрос расширения ассортимента лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья [2, 3, 5, 7].

Перед нами стояла задача подбора максимально простого и эффективного способа получения экстрактов из лекарственных растений для настойки, в составе которых преобладают флавоноиды, в частности авикулярин [4, 6, 8]. Предложено следующее соотношение лекарственного растительного сырья: трава горца птичьего(*Polygonum aviculare* L.s.l.) – 30%, листья березы повислой *Betula pendula* Roth) – 25%, трава хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) – 25%, трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) – 20%. Объектами исследования служили листья березы повислой, трава хвоща полевого, трава горца почечуйного, трава зверобоя продырявленного производства АО «Красногорлексредства», Россия, г. Красногорск, 2020 г.

Экстракция проводилась с помощью испарителя ротационного «ИР-1 ЛТ». Электронные спектры измерялись на УФ-спектрофотометре UNICO 2800, тонкослойная хроматография проводилась с использованием пластин «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ», подвижная фаза смесь растворителей этилацетат: муравьиная кислота: вода в соотношении (40:4:6), УФ-кабинет 254/365 НТЦ «Ленхром».

Цель исследования – разработка способа получения настойки на основе лекарственного растительного сырья с максимальным выходом действующих веществ и последующей стандартизацией.

## Методика

На первом этапе исследований была подобрана оптимальная концентрация экстрагента, в качестве экстрагента использовали спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента – 1:5, время экстракции – 15 минут на водяной бане и последующие 15 минут с использованием ультразвуковой бани. Максимальный выход действующих веществ наблюдался при использованием спирта этилового с концентрацией 70% (табл. 1), максимум поглощения находится в области спектра при длине волны 410±2 нм (рис.1) [1, 9, 11].

Таблица 1. Влияние концентрации экстрагента на полноту извлечения суммы флавоноидов в настойке

| Концентрация спирта, % | Соотношение «сырьё : экстрагент» | Время экстракции | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин, % |
|---|---|---|---|
| 70 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,43±0,01 |
| 40 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,21±0,01 |
| 15 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,11±0,01 |

С целью увеличения выхода действующих веществ при получении настойки на основе лекарственного растительного сырья был предложен метод с применением режима вакуумного кипения с последующим воздействием ультразвуковой бани [10, 11, 13].

Выявлены оптимальными условия экстрагирования: экстрагент 70% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» (1:5), экстракция в течение 15 мин в режиме вакуумного кипения, при температуре 90°С и 15 мин с использованием ультразвуковой бани при температуре 40°С, мощности 60 Вт и частоте 40кГц (табл. 2).

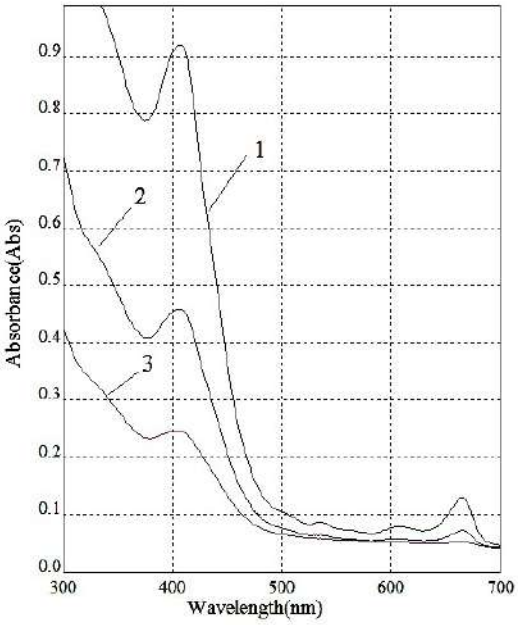



Рис. 1. Электронные спектры настойки с $AlCl_3$ 70% (1), 40% (2), 15% (3)

Таблица 2. Влияние режима вакуумной экстракции на полноту извлечения суммы флавоноидов в настойке

| Концентрация спирта, % | Соотношение «сырьё : экстрагент» | Время экстракции, t° C | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин, % |
|---|---|---|---|
| 70 | 1:5 | 15 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 60° | 0,31±0,01 |
| | | 10 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 80° | 0,41±0,01 |
| | | 15 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 90° | 0,46±0,01 |

Методика количественного определения суммы флавоноидов: точную навеску настойки (2 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора до метки 96% спиртом и тщательно перемешивали (раствор А).

2,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и доводили объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор Б). Через 20 минут измеряли оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при аналитической длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм (рис. 2). В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом 96% до метки. С целью комплексной оценки химического состава настойки, было проведено хроматографическое исследование. После подбора для анализа лекарственной формы оптимальных условий, было выявлено, что наиболее подходящей системой растворителей для диференциации химически активных соединений является система этилацетат – муравьиная кислота – вода (40:4:6). Детекция химических соединений была проведена в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 365 нм). При просмотре пластин «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» с полученными хроматограммами в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 365 нм), просматриваются доминирующие пятна следующей окраски: темно-зеленое пятно с величиной $R_f$ около 0,4 (рутин), пятно, имеющее красно-розовую окраску, с величиной $R_f$ около 0,6 (гиперицин), пятно, окрашенное в зеленый цвет, с величиной $R_f$ около 0,5 (хлорогеновая кислота), пятно, окрашеное в красно-оранжевый цвет, с величиной $R_f$ около 0,98 (хлорофиллы), оранжевое пятно с величиной $R_f$ около 0,8 (кверцетин) (рис. 3).

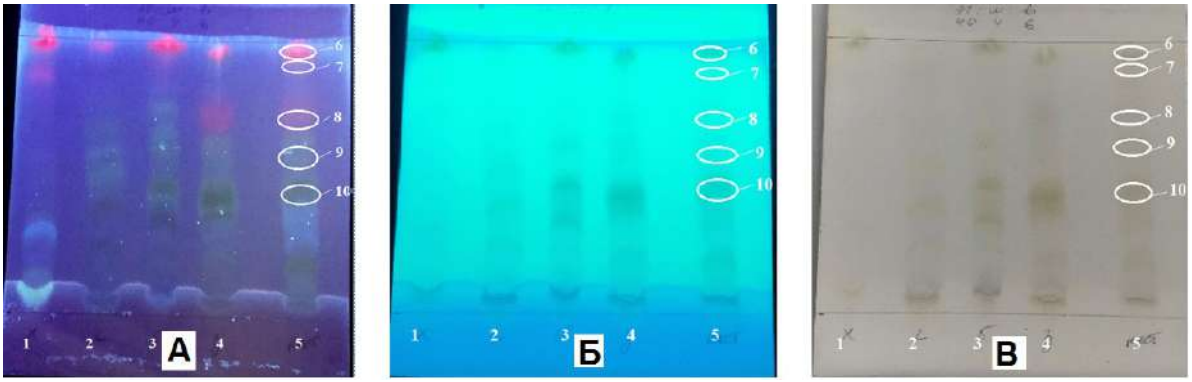



Рис. 2. Хроматограмма водно-спиртовых извлечений из травы хвоща, травы горца, листьев березы, травы зверобоя, в системе растворителей: этилацетат: муравьиная кислота : вода (40:4:6): А – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; В – детекция в видимой области спектра. 1 – водно-спиртовое извлечение сырья хвоща полевого; 2 – водно-спиртовое извлечение сырья горца птичьего; 3 – водно-спиртовое извлечение сырья березы повислой; 4 – водно-спиртовое извлечение сырья зверобоя продырявленного, 5 – многокомпонентная настойка; 6 –хлорофилл, 7 – кверцетин, 8 – гиперицин, 9 – хлорогеновая кислота, 10 – рутин

## Результаты исследования и их обсуждение

Содержание суммы флавоноидов вели в пересчете на доминирующее вещество авикулярин в настойке в % вычисляли по формуле:

$$X = \frac{E \times 25 \times 25}{m \times 330 \times 2}$$

, где $E$ – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса навески препарата, г; 330 – удельный показатель поглощения ( $E^{1\%}_{1\,см}$ ) комплекса авикулярина с алюминием хлоридом при длине волны 410 нм.

Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в настойке

| *F* | $\overline{X}$ | *S* | *P, %* | *t (P,f)* | *ΔX* | *E, %* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 0,45 | 0,00968 | 95 | 2,23 | ±0,0216 | ±4,81 |

## Заключение

По итогам исследования предложена методика получения настойки с содержанием суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин 0,46±0,01%, что составляет выход флавоноидов по отношению к их содержанию в исходном сырье 84,3±0,04%. Разработана методика количественного анализа настойки на основе лекарственного растительного сырья березы повислой, хвоща полевого, горца почечуйного и зверобоя продырявленного. Подтверждено наличие основных действующих веществ группы флавоноиды методом тонкослойной хроматографии.

## Литература (references)

1. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическим объектами. МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. [Akopyan V.B., Ershov Yu.A. Osnovy vzaimodejstviya ul'trazvuka s biologicheskim ob"ektami. MGTU im. N. E. Baumana, 2005. (in Russian)]

2. Брук М.М. и др. Получение лекарственных препаратов из растительного и животного сырья под действием ультразвука. В кн. Ультразвук в физиологии и медицине. Т.1. – Ростов-на-Дону, 1972, с. 115-116. [Bruk M.M. i dr. Poluchenie lekarstvennyh preparatov iz rastitel'nogo i zhivotnogo syr'ya pod dejstviem ul'trazvuka. V kn. Ul'trazvuk v fiziologii i medicine. T.1, Rostov-na-Donu, 1972, p. 115-116. (in Russian)]
3. Бубенчиков Р.А., Позднякова Т.А. Разработка числовых показателей качества для стандартизации травы астрагала шерстистоцветкового (Astragalus dasyanthus l.) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.19, №2. – С. 171-178. [Bubenchikov R.A., Pozdnyakova T.A. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N2. – P. 171-178. (in Russian)]
4. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 2. / МЗ РФ. 14-е изд. - М.: Медицина, 2018. – 3262 с. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii: Vyp. 2. / MZ RF. 14-e izd. – M.: Medicina, 2018. – 3262 p. (in Russian)]
5. Компанцева Е.В., Луценко Д.Н., Кодониди И.П., Червонная Н.М. Изучение возможности идентификации нового биологически активного вещества кардиопротекторного действия // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.19, №2. – С. 185-190. [Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Kodonidi I.P., Chervonnaya N.M. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N2. – P. 185-190. (in Russian)]
6. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. Изд. 2-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с. [Kurkin V.A. Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskih vuzov. – Izd. 2-e, pererab. i dop. – Samara: OOO «Ofort», GOU VPO «SamGMU», 2007. – 1239 p. (in Russian)]
7. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. – Изд. 5-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»», ФГБОУ ВО «СамГМУ», 2020. – 1278 с. [Kurkin V.A. Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskih vuzov. – Izd. 5-e, pererab. i dop. – Samara: OOO «Printing Association «Standard»», FGBOU VO «SamGMU», 2020. – 1278 p. (in Russian)]
8. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею российской федерации XIII издания // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – Самара, 2016. – Т.18, №2(3). – С. 730-736. [Kurkin V.A. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – V.18, N2(3). – P.730-736. (in Russian)]
9. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1981. – 208 с. [Molchanov G.I. Intensive processing of medicinal raw materials. – M.: Medicine, 1981. – 208 p. (in Russian)]
10. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М., Медицина, 1976. – 204 с. [Ponomarev V.D. Ekstragirovanie lekarstvennogo syr'ya. – M., Medicina, 1976. – 204 p. (In Russian.)]
11. Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств: Учебник для студентов высших учебных заведений. В 2-х т. – Т.2 - Харьков: НФАУ МТК – Книга, 1999. – 704 с. [Chueshov V.I., Chernov M.Yu., Hohlova L.M. i dr. Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv: Uchebnik dlya studentov vysshih uchebnyh zavedenij. V 2-h t. – V.2 - Har'kov: NFAU MTK – Kniga, 1999. – 704 p. (In Russian.)]]
12. Bowen I.H., Corrigan D., Cubbin I.J., de Smet P.A.G.M. et al. Woerdenbag. Adverse Effects of Herbal Drugs 2/ Springer Science & Business Media, 2012.

**Информация об авторах**

*Лабковская Майя Викторовна* – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: majya.rybalko@yandex.ru

*Куркин Владимир Александрович* – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «СамГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

*Шмыгарева Анна Анатольевна* – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

*Дорохина Ольга Алексеевна – кандидат биологических наук,* доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: ya82@bk.ru

*Кочукова Анна Александровна – кандидат биологических наук,* доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: annet512@rambler.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.08.2023

Принята к печати 15.12.2023

*УДК 615.322* 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.31 EDN: YJSBTZ*

# ВЛИЯНИЕ БИОСТИМУЛЯЦИИ ТРАВЫ МАНЖЕТКИ ОБЫКНОВЕННОЙ СВЕЖЕЙ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ СОКА

**© Черемных Е.В., Зорина Е.В., Белоногова В.Д.**

*Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия, 614990, Пермь, Полевая ул., 2*

*Резюме*

**Цель.** Исследовать влияние низких положительных температур на химический состав сока травы манжетки обыкновенной и антиоксидантную активность.

**Методика**. Объектом исследования служили образцы соков, полученные из свежей травы манжетки без биостимуляции и после воздействия на сырье низкой положительной температуры (+4°С) в течение 7 и 14 суток. Качественный состав фенольных соединений в соках устанавливали, восходящей хроматографией на бумаге. Профиль фенольных соединений сока устанавливали методом ультраэффективной жидкостной хроматографии. Содержание сухого остатка и групп биологически активных веществ (БАВ) определяли фармакопейными методами, антиоксидантную активность (АОА) – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) – тестом.

**Результаты**. При биостимуляции сырья изменяется качественный состав фенольных соединений, увеличивается содержание флавоноидов и дубильных веществ в соке травы манжетки и повышается АОА. Продолжительность воздействия на сырье низких положительных температур имеет существенное значение. Биостимуляция в течение 7 дней показала наибольшее содержание фенольных соединений (идентифицировано 16 веществ) в соке и повышение АОА.

**Заключение.** Процесс биостимуляции сырья оказывает положительное влияние на качественный и количественный состав биологически активных веществ сока травы манжетки обыкновенной свежей, и способствует повышению АОА.

*Ключевые слова*: сок манжетки, биостимуляция, *Alchemilla vulgari*s, антиоксидантная активность

# BIOSTIMULATION OF FRESH HERBS *ALCHEMILLA VULGARIS* AND ITS EFFECT ON THE CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JUICE

Cheremnykh E.V., Zorina E.V., Belonogova V.D.

*Perm State Pharmaceutical Academy, 2, Polevaya St., 614990, Perm, Russia*

*Abstract*

**Objective**. To investigate the effect of low positive temperatures on the chemical composition of the juice of the common herbs of the *Alchemilla vulgari*s and antioxidant activity.

**Methods**. The object of the study was juice samples obtained from fresh herb *Alchemilla vulgaris* without biostimulation and after exposure to raw materials at a low positive temperature (+4 ° C) for 7 and 14 days. The qualitative composition of phenolic compounds in juices was established by ascending chromatography on paper. The profile of the phenolic compounds of the juice was established by ultra-efficient liquid chromatography. The content of the dry residue and groups of biologically active substances (BAS) was determined by pharmacopoeial methods, the antioxidant activity (AOA) – 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPHG) - by a test.

**Results**. During biostimulation of raw materials, the qualitative composition of phenolic compounds changes, the content of flavonoids and tannins in the juice of herbs *Alchemilla vulgaris* increases and the AOA increases. The duration of exposure to low positive temperatures on raw materials is essential. Biostimulation for 7 days showed the highest content of phenolic compounds (16 substances were identified) in the juice and an increase in AOA.

**Conclusions.** The process of biostimulation of raw materials has a positive effect on the qualitative and quantitative composition of biologically active substances of fresh herbs *Alchemilla vulgaris* juice, and contributes to an increase in AOA.

*Keywords*: juice, biostimulation, *Alchemilla vulgaris*, antioxidant activity

## Введение

Интерес к изучению влияния стрессовых факторов на изменения химического состава растительного сырья вызван перспективами разработки лекарственных средств на основе метаболитов, образующихся в результате адаптивных реакций [1, 4, 5, 6]. Влияние низкой положительной температуры в условиях отсутствия света на фармакологическую активность сырья алоэ и других растений изучал В. П. Филатов в 30-х годах XX века, он же впервые ввел термин «биогенные стимуляторы». Можно предположить, что процессы, происходящие в изолированных тканях растения аналогичны происходящим в естественных местообитаниях под действием низких положительных температур. Многочисленными исследованиями показано, что стресс, вызванный низкими положительными температурами, приводит к генерированию в клетках растения активных форм кислорода, которые в свою очередь вызывают активацию защитной системы. Важными компонентами ответа (защитной реакцией) растения является индукция специфических ферментов (полифенолоксидазы, пероксидазы, каталазы и др.), катализирующих синтез вторичных метаболитов, поддерживающих баланс оксидант-антиоксидантной системы. Ферментативные трансформации претерпевают флавоноиды, дубильные вещества, аскорбиновая кислота, полисахариды [7, 10].

Современные исследования подтверждают изменения в химическом составе и биологической активности свежего сырья под периодическим влиянием низких положительных температур. Изменения носят индивидуальный характер и выражаются в повышении выхода фенольных соединений в листьях осины обыкновенной, экстрактивных и дубильных веществ в листьях ольхи, экстрактивных веществ в соке из листьев подорожника большого [1, 4, 5]. Содержание антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и флавоноидов в листьях алоэ и каллизии душистой в стрессовых условиях (при температуре 4-8°С) увеличивалось, что по мнению авторов связано с адаптивной реакцией растений на стресс [6]. Изменения химического состава биостимулированного сока подорожника привело к повышению ранозаживляющей активности по сравнению с нативным соком [1].

Ранее нами показано, что сок из свежей травы *Alchemilla vulgaris* содержит широкий спектр биологически активных соединений [8]. В связи с вышеизложенным интерес вызывает изучение влияния биогенной стимуляции свежей травы манжетки на химический состав и антиоксидантную активность сока.

Цель исследования – изучить химический состав и антиоксидантную активность сока из свежей травы манжетки обыкновенной, подверженной периодическому воздействию низких положительных температур.

## Методика

Надземную часть манжетки обыкновенной заготавливали в период цветения и начала плодоношения на разнотравном луге с преобладанием в фитоценозе манжетки в Краснокамском районе Пермского края. Из свежего сырья получали образцы соков: 1. нативный сок (СН), свежее сырьё измельчали до частиц размером 3-5 мм, полученную массу отжимали через 4-5 слоев марли, далее консервировали 95% этиловым спиртом, отстаивали 10 суток при t+4°С после чего осадок отфильтровали через бумажный фильтр (образец сока получен из сырья без воздействия на него стрессовых факторов); 2. соки из биостимулированного сырья (СБ7 и СБ14), свежее сырье манжетки, упакованное в полиэтилен, выдерживали в условиях отсутствия света при низких положительных температурах (при t + 4±2°С) в течение 7 и 14 дней. Соки получали аналогичным нативному соку способом.

Фенольные соединения исследовали методом восходящей хроматографии на бумаге в системах бутиловый спирт – уксусная кислота ледяная – вода очищенная (БУВ 4:1:5) и уксусная кислота ледяная – вода очищенная (УВ 15:85) на бумаге марки FN 1, плотностью 150 г/м$^2$, производитель MUNKTEL &FILTRAK GmbH. Детектирование веществ, проводили по хроматографическим

характеристикам веществ и с применением детектирующих реагентов: пары аммиака, алюминия III хлорида спиртового раствора 2%. Идентифицировали зоны адсорбции по соответствию стандартным образцам рутина, хлорогеновой, кофейной и феруловой кислоты.

Профиль фенольных соединений сока травы манжетки обыкновенной биостимулированной в течение 7 дней определяли методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC/MS) на хроматографе Waters Acquility с диодно-матричным УФ-детектором и тандемным квадрупольным МС-детектором TQD (Waters). Хроматографировали испытуемый раствор и растворы стандартов в следующих условиях: объем пробы 2 мкл и 5 мкл; колонка 0,21×15,0 см Acuility UPLC BEH C18 (1,7 мкм); температура колонки 35; скорость потока 0,25 мл/мин; градиентный режим хроматографирования формировался путем смешивания подвижных фаз А и В: подвижная фаза А (ПФ А) – смесь: вода очищенная – ацетонитрил (95 : 5) с муравьиной кислотой; подвижная фаза В (ПФ В): ацетонитрил с муравьиной кислотой. УФ-детекция: 220-500 нм. Условия МС: МС детекция в режиме позитивных ионов; параметры детектора: напряжение на капилляре +3 кВ; напряжение на конусе 50 В; температура капилляра 450; температура источника 120; скорость потока осушающего газа 800 л/ч, скорость потока газа в конусе 50 л/ч и сканирование в диапазоне масс от 100 до 1500 ед.; МС-детекция в режиме негативных ионов; параметры детектора: напряжение на капилляре -3 кВ; напряжение на конусе -30 В; температура капилляра 350; температура источника 120; скорость потока осушающего газа 500 л/ч, скорость потока газа в конусе 50 л/ч и сканирование в диапазоне масс от 100 до 1500 ед.

В соках, определяли содержание сухого остатка, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, полисахаридов по фармакопейным методикам. Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили дифференциальным спектрофотометрическим методом на приборе СФ-2000 при длине волны 405 нм, с использованием реакции комплексообразования с алюминия хлоридом [9].

Антиоксидантную активность (АОА) определяли радикал-нейтрализующим методом, с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ). Вычисляли АОА исследуемых веществ по формуле АОА= ($А_к$ – $А_и$/$А_к$)*100%; где $А_к$ – оптическая плотность раствора ДФПГ, $А_и$ – оптическая плотность ДФПГ в присутствии испытуемого образца [2] и концентрацию сока, при которой АОА равна 50% ($IC_{50}$ мг/мл).

Результаты исследования обрабатывали статистически: для каждой группы образцов сока рассчитывали среднее значение и среднее квадратичное отклонение, для оценки различий между группами использовали t критерий Стьюдента.

## Результаты исследования и их обсуждение

Влияние периодического воздействия стрессовых факторов (низких положительных температур и отсутствие света) на сырьё изучали на соках, полученных из сырья биостимулированного в течение 7 и 14 дней. Для фиксации изменения химического состава проводили сравнительное качественное и количественное исследование биологически активных веществ (БАВ).

На хроматограммах всех исследуемых соков обнаружили флавоноиды (флавоны, флавонолы, в том числе флавонол-3-гликозиды), изофлавоноиды, коричные и фенолкарбоновые кислоты, вещества фенольной природы неустановленной группы. В соке СН детектировано в системах БУВ и УВ по 21 веществу, в соке СБ7 –18/24 соответственно, в СБ14 – 22/19 веществ. Сравнительный анализ характеристик зон адсорбции веществ соков показал различие в химическом составе, вне зависимости от принадлежности их к одной группе биологически активных веществ. В соках СН/СБ7 детектированы флавонол-5-гликозиды (система БУВ, Rf 0,46/0,44 соответственно), метилированные флавонолы (система УВ, Rf 0,10/0,10), флавон-5-гликозиды (система УВ, Rf 0,30, 0,43, 0,50/0,30, 0,43, 0,44). В соках СН/СБ14 обнаружены флавоноиды с различными формами замещения фенольных групп (система БУВ, Rf 0,31/ 0,26, 0,45, 0,49, 0,77 соответственно), агликоны метоксифлавонолов (система УВ, Rf 0,01/0,01), флавоны без 5-ОН группы (система УВ, Rf 0,32/БУВ Rf 0,04). В соках СБ7/СБ14 детектированы агликоны флавонолов (система УВ, Rf 0,16/0,16) и агликоны метоксифлавонов (система УВ, Rf 0,15, 0,23/0,26). Флаваноны (система БУВ, Rf 0,43), метоксифлавоны (система УВ, Rf 0,19), дигидрохалконы (система УВ, Rf 0,45) детектированы только в соке СН. Метилированные производные коричной кислоты (система БУВ, Rf 0,73) – только в соке СБ7. Агликоны флавонов с 3-ОН группой (система БУВ, Rf 0,10) и 3,5-диметоксифлавонолы (система УВ, Rf 0,76) – в соке СБ14. Идентичные характеристики на хроматограммах всех соков имели только вещества в системе БУВ 4:1:2 с Rf 0,16±0,00, соответствующие окисленным флавоноидам (флавонам или флавонолам), с Rf 0,26±0,01 – п-

кумаровой кислоте (или др. коричным кислотам), с Rf 0,80±0,01 – фенолкарбоновым кислотам и с Rf 0,84±0,01– изофлавоноидам. В системе УВ 15:85 идентичных веществ, присутствующих на хроматограммах всех соков не обнаружено.

В образцах соков из сырья подвергавшегося 7-дневному воздействию низких положительных температур (биостимуляции) наблюдали достоверно большее содержание полифенолов: дубильных веществ и флавоноидов, но меньшее количество аскорбиновой кислоты в сравнении с нативным соком (СН). Содержание полисахаридов, и сухого остатка не имело достоверных отличий (табл. 1).

Таблица 1. Содержание биологически активных веществ и сухого остатка в соках из травы манжетки обыкновенной

| Группа БАВ | Содержание БАВ, % | | |
|---|---|---|---|
| | сок нативный | сок из сырья, биостимулированного 7 дней | сок из сырья, биостимулированного 14 дней |
| Аскорбиновая кислота | 0,052±0,003 | 0,046±0,002* | 0,050±0,006 |
| Флавоноиды | 5,8±0,2 | 7,0±0,7* | 6,4±0,6 |
| Дубильные вещества | 7.9±0,6 | 11,7±0,9* | 11,6±0,7* |
| Полисахариды | 55±9 | 51±6 | 43±5* |
| Сухой остаток | 6,9±0,4 | 6,9±0,3 | 5,9±0,3* [2]* |

Примечание: *– при р <0,05 уровень различий в сравнении с соком нативным; [2]* – при р <0,05 уровень различий в сравнении с соком из сырья биостимулированного 7 дней

Воздействие на сырье низких положительных температур в течение 14 дней привело к достоверному снижению содержания сухого остатка в СБ14 в сравнении с соками СН и СБ7. Содержание аскорбиновой кислоты и флавоноидов в СБ14 статистически значимо не отличалось от соков СН и СБ7. Количество дубильных веществ и полисахаридов в соках СБ14 и СБ7 находилось в одном диапазоне колебаний концентраций, но имело статистически значимое отличие от сока СН. В результате выявили, что наибольшее содержание дубильных веществ и флавоноидов характерно для всех образцов сока, сырьё которых подвергалось биогенной стимуляции.

Все исследуемые образцы соков из травы манжетки обыкновенной проявили антиоксидантную активность в тесте с ДФПГ, которая уступала веществу сравнения – аскорбиновой кислоте. Биостимуляция травы манжетки в течение 7 дней привела к достоверному увеличению антиоксидантной активности сока в сравнении с СН, более длительное воздействие (в течение 14 дней) низких положительных температур показало статистически более низкую АОА в сравнении с СБ7 (табл. 2).

Таблица 2. Антиоксидантная активность исследуемых соков

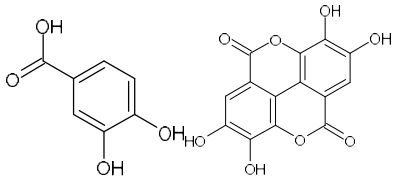
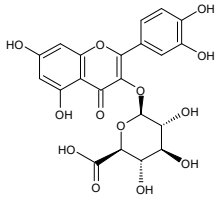
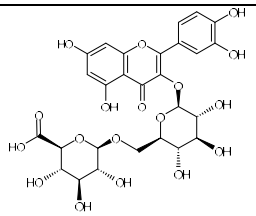
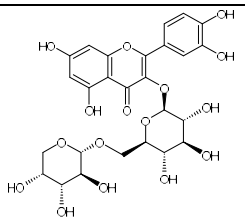
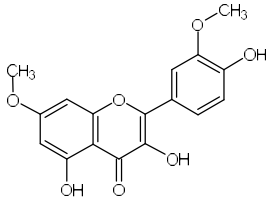
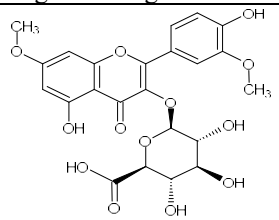
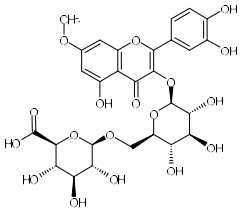
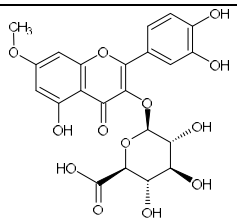
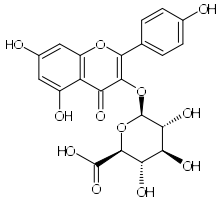
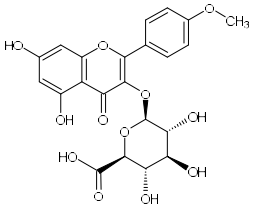
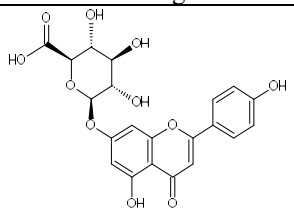
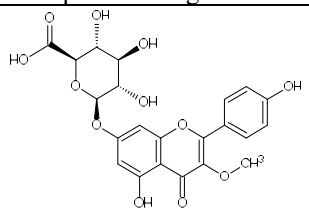
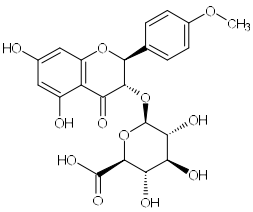
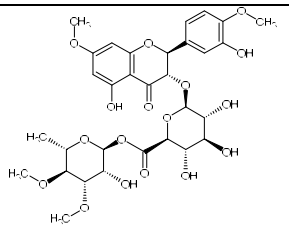
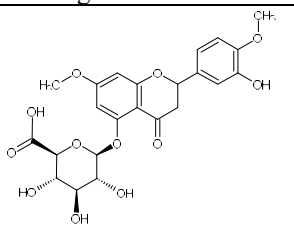
| Образцы соков | $IC_{50}$ мг/мл | $ED_{50}$ мг |
|---|---|---|
| сок нативный | 0,15-0,19 | 0,80-1,00 |
| сок из сырья биостимулированного 7 дней | 0,06-0,07 [1]* | 0,30-0,40 |
| сок из сырья биостимулированного 14 дней | 0,10-0,11 [2]* | 0,60-0,61 |
| аскорбиновая кислота | 0,0041±0,2 | 0,0221±1,1 |

Примечание: [1]* – при р <0,05 уровень различий в сравнении с СН; [2]* – при р <0,05 уровень различий в сравнении с СБ7

Природу фенольных соединений, содержащихся в соке из травы манжетки обыкновенной биостимулированной в течение 7 дней, определяли методом LC/MS. На основании масс-спектров при ионизации в позитивном и негативном режимах были предположены молекулярные ионы ($M+H^+$, $M+Na^+$ и $M-H^-$) и молекулярный вес компонента, а по фрагментации и УФ-спектрам предположена структура агликона, входящего в состав молекулы. Использованы данные для пиков, имеющих площадь не менее 1% от суммы всех площадей при 260 нм. Полученные данные приведены в табл. 3.

В соке СБ7 идентифицировано 16 веществ фенольной природы: протокатеховая и эллаговая кислота, флавонолы – производные кверцетина и кемферола, флавононы, флавоны и метоксифлавоны производные апигенина.

Таблица 3. Фенольные соединения сока из травы манжетки биостимулированной 7 дней

| Структурная формула / название вещества | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Protocatechuic Acid /Ellagic acid | Quercetin-3-O-glucuronide | Quercetin 3-O-glucuronilglucoside |
|  |  |  |
| Quercetin-3-O-arabinoglucoside | Rhamnazin | Rhamnazin-3-O-glucuronide |
|  |  |  |
| Rhamnetin-3-O-glucuronilglucoside | Rhamnetin-3-O-glucuronide | Kaempferol-3-O-glucuronide |
|  |  |  |
| Kaempferide-3-O-glucuronide | Apigenin-7-O-glucuronide | Methoxyapigenin-7-O-glucuronide |
|  |  |  |
| Hesperetin-7-O-glucuronide | Blumeatin B-3-O-dimethylramnosylglucuronide | Persicogenin-5-O-glucuronide |

Преобладание производных кверцетина и кемферола согласуется с литературными данными, описывающими ферментативные превращения флавоноидов при окислительно-восстановительных реакциях инициированных низкими положительными температурами [7].

## Выводы

1. Воздействие низких положительных температур (биостимуляции) на траву манжетки обыкновенной свежую приводит к изменению качественного состава, количественного содержания биологически активных веществ и антиоксидантной активности соков, что подтверждает протекание адаптивных реакций в сырье под влиянием стрессового фактора.

2. Продолжительность биостимуляции сырья манжетки влияет на химический состав и антиоксидантную активность сока. Семидневная биостимуляции манжетки является оптимальным периодом подготовки сырья. Полифенольные соединения, идентифицированные в соке биостимулированной травы манжетки, показывают перспективность дальнейшего изучения химического состава и фармакологической активности.

## Литература (references)


1. Бадальян З.В., Макарова Л.М., Погорелый В.Е. и др. Сравнительное фармакологическое изучение ферментированного сока подорожника // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – №10-3(129). – С. 121-123. [Badalyan Z.V., Makarova L.M., Pogorely V.E. et al. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya*. Scientific Bulletin of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. – 2012. – N10-3(129). – P. 121-123. (in Russian)]
2. Варшавский Б.Я. Химия и биохимия свободно - радикального окисления. – Учебно-методическое пособие / Варшавский Б.Я., Галактионова Л.П., Ельчанинова С.А. – Барнаул, 2012 г. [Varshavsky B.Y. Chemistry and biochemistry of free radical oxidation. Educational and methodical manual. Varshavsky B.Y, Galaktionova L.P., Yelchaninova S.A. – Barnaul, 2012. (in Russian)]
3. Живетьев М.А., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В. и др. Влияние сезонного понижения суточных температур на суточную адаптацию и динамику биологически активных веществ в листьях лекарственных растений // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. – 2013. – №3(1). [Zhivetyev M.A., Rudikova E.G., Dudareva L.V. et al. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya. Ekologiya*. Izvestiya Irkutsk State University. Series: Biology. Ecology. – 2013. – N3(1). (in Russian)]
4. Нестеров Г.В., Литвинова Т.М., Кондрашев С.В. Влияние процесса ферментации на показатели качества листьев ольхи видов *Alnus incana* ( L.) *Moench и Alnus glutinosa* (L.) Gaerth // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Т.22, №3. – С. 67-71. [Nesterov G.V., Litvinova T.M., Kondrashev S.V. *Mediko-farmacevticheskij zhurnal Pul's*. Medico-pharmaceutical journal Pulse. – 2020. – V.22, N3. – P. 67-71. (in Russian)]
5. Нехорошева А.В., Нехорошев С.В., Дренин А.А. и др. Влияние процесса ферментации на химический состав растительного сырья, получаемого из листьев осины обыкновенной // Химия растительного сырья. – 2019. – № 2. – С. 251-259. [Nekhorosheva A.V., Nekhoroshev S.V., Drenin A.A. et al. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of vegetable raw materials. – 2019. – N2. – P. 251-259. (in Russian)]
6. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Торопова А.А. и др. Химический состав сока каллизии душистой (*Callisia fragrans* Wood.) и его антиоксидантная активность (in vitro) // Химия растительного сырья. – 2008. – №4. – С. 95-100. [Olennikov D. N., Zilfikarov I. N., Toropova A. A. et al. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of vegetable raw materials. – 2008. – N4. – P. 95-100. (in Russian)]
7. Червяковский Е.М., Курченко В.П., Костюк В.А. Роль флавоноидов в биологических реакциях с переносом электронов // Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2009. – Т.4. – №1. – С. 9-26. [Chervyakovsky E.M., Kurchenko V.P., Kostyuk V.A. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biohimicheskie i molekulyarnye osnovy funkcionirovaniya biosistem*. Proceedings of the Belarusian State University. Series: Physiological, biochemical and molecular bases of functioning of biosystems. – 2009. – V.4, N1. – P. 9-269. (in Russian)]
8. Черемных Е.В., Зорина Е.В., Белоногова В.Д. Химический состав сока манжетки обыкновенной // Вестник ПГФА. – 2018. – Т.22, – С. 174-177. [Cheremnykh E.V., Zorina E.V., Belonogova V.D. *Vestnik PGFA*. Bulletin of the PGFA. – 2018. – T.22, – P. 174-177. (in Russian)]
9. Черемных, Е.В., Зорина Е.В., Белоногова В.Д. Аспекты стандартизации сока травы манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris*) // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – 11(4). – С. 99-104. [Cheremnykh E.V., Zorina E.V, Belonogova V.D. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. Drug development & registration. – 2022. – 11(4) – P. 99-104. (in Russian)]
10. Borges, Cristine & Minatel, Igor Otavio & Gomez Gomez, Hector & Lima, Giuseppina. (2017). Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites. 10.1007/978-3-319-68717-9_15.

**Информация об авторах**

*Черемных Елена Васильевна* – ассистент кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: chl1978@yandex.ru

*Зорина Елена Владимировна* – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: formularis@yandex.ru

*Белоногова Валентина Дмитриевна* – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. E-mail: belonogovavd@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2023

Принята к печати 15.12.2023

## ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ, ОРГАНИЗАЦИЯ И СОЦИОЛОГИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

*УДК 616-006.6* 3.2.3 Общественное здоровье, организация и социология здравоохранения

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.32 EDN: ZCDVFV*

# ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

**© Санников А.Л., Пономарёв А.С., Зеленых Д.В.**

*Северный государственный медицинский университет, Россия, 163000, Архангельск, Троицкий пр-т, 51*

*Резюме*

**Цель.** Рассмотреть динамику смертности от злокачественных новообразований в Псковской области и Российской Федерации в целом, выделить основные факторы риска, возможно способствующие возникновению злокачественных новообразований.

**Методика.** В работе проанализированы статистические показатели заболеваемости и смертности от колоректального рака, рака молочной железы, трахеи, бронхов, лёгких и желудка с 2011 года по 2021 год; проведено сравнение полученных результатов в Псковской области с таковыми Российской Федерации в целом, а также различия между мужским и женским населением. В качестве материалов и методов использовались статистические данные, ассоциированные со смертностью от рака у жителей Псковской области.

**Результаты.** Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований в Псковской области имеет одни из самых высоких показателей по Северо-Западному федеральному округу в период с 2011 года по 2021 год, что, возможно, объясняется таким рядом факторов риска, как: демографические особенности Псковской области, уровень распространенности курения, алкоголизма, рост промышленности, малая заинтересованность взрослого населения в диспансеризации, потеря кадров медицинского персонала и низкая эффективность экономики области.

**Заключение.** Выявленные факторы риска, вероятно, могли оказать влияние на показатели заболеваемости и смертности в Псковской области. Реорганизация и повышение эффективности работы региональной онкологической службы, а именно организация ранней диагностики и своевременного лечения пациентов со злокачественными новообразованиями, а также раннее выявление злокачественных новообразований необходимы в целях увеличения продолжительности жизни пациентов.

*Ключевые слова:* злокачественные новообразования, колоректальный рак, рак молочной железы, трахеи, бронхов и лёгких, желудка, Псковская область

# EPIDEMOLOGIC ANALYSIS OF MALIGNANT NEOPLASMS IN THE PSKOV REGION

Sannikov A.L., Ponomarev A.S., Zelenykh D.V.

*Northern State Medical University, 51, Troitsky Ave., 163000, Arkhangelsk, Russia*

*Abstract*

**Objective.** To review the dynamics of mortality from malignant neoplasms in the Pskov region and the Russian Federation as a whole, to identify the main risk factors possibly contributing to the occurrence of malignant neoplasms.

**Methods.** The paper analyzes statistical indicators of morbidity and mortality from colorectal cancer, breast cancer, tracheal, bronchial, lung and gastric cancer from 2011 to 2021; it compares the results obtained in the Pskov region with those of the Russian Federation as a whole, as well as the differences between male and female population. The materials and methods used were statistical data associated with cancer mortality in the residents of the Pskov region.

**Results.** Morbidity and mortality from malignant neoplasms in the Pskov region has one of the highest rates in the North-West Federal District in the period from 2011 to 2021, which is probably explained by

a number of risk factors such as: demographic features of the Pskov region, the prevalence of smoking, alcoholism, industrial growth, low interest of the adult population in the dispensary, loss of medical personnel and low efficiency of the regional economy.

**Conclusion.** The identified risk factors could probably have an impact on morbidity and mortality rates in the Pskov region. Reorganization and improvement of the efficiency of the regional oncology service, namely the organization of early diagnosis and timely treatment of patients with malignant neoplasms, as well as early detection of malignant neoplasms, are necessary in order to increase the life expectancy of patients.

*Keywords:* malignant neoplasms, colorectal cancer, breast cancer, trachea, bronchial and lung cancer, stomach cancer, Pskov region

## Введение

Злокачественные новообразования являются одной из самых значимых проблем, затрагивающих не только систему здравоохранения, но и общество в целом. Отмечается неуклонный рост числа злокачественных новообразований в России и в мире. Особую проблему составляет выявление болезни на ранней стадии, поскольку именно это определяет продолжительность жизни больного, успех или неуспех проводимого лечения.

В настоящее время уровень заболеваемости злокачественными новообразованиями неуклонно растёт и представляет собой актуальную социально-гигиеническую проблему; она характеризуется поздней диагностикой, высоким риском рецидива после курса лечения и, соответственно, высокой летальностью.

В глобальном масштабе рак является второй по значимости причиной смертности после сердечно-сосудистых заболеваний, и это основная причина смерти более чем в 50 странах. В 2020 г. в мире насчитывалось почти 10 миллионов смертей от рака. Бремя рака продолжает оказывать влияние на отдельных людей, сообщества и системы здравоохранения по всему миру-влияние, которое, вероятно, будет усиливаться по мере дальнейшего роста заболеваемости и смертности [10].

Эпидемиологическая ситуация со злокачественными новообразованиями в России остаётся противоречивой-в ряде регионов страны на фоне реализуемых программ профилактики и ранней диагностики отмечается снижение уровней первичной заболеваемости и смертности от новообразований; в отдельных регионах-выраженная положительная динамика процессов всё ещё отсутствует. В числе таких регионов – Псковская область. С 2011 г. по 2019 г. заболеваемость злокачественными новообразованиями увеличилась на 17,1% – с 427,6 на 100 тыс. населения в 2011 г. до 500,6 на 100 тыс. населения в 2019 году. В 2020 г. заболеваемость ЗНО снизилась до 454,76 на 100 тыс. населения или на 9,2% по сравнению с 2019 г., что объясняется низкими показателями диспансеризации в 2020 году в связи с эпидемиологической ситуацией по COVID-19 [7]. В связи с этим, представляет интерес выяснения эпидемиологической ситуации с заболеваемостью злокачественными новообразованиями, а также выявление возможных факторов риска в Псковской области.

Цель исследования – рассмотреть динамику смертности от злокачественных новообразований в Псковской области и Российской Федерации в целом, выделить основные факторы риска, возможно способствующие возникновению злокачественных новообразований.

## Методика

Базой исследования явилась Псковская область (Северо-Западный федеральный округ). В качестве материалов исследования использовались данные книг «Злокачественные новообразования в России в 2011-2021 году (заболеваемость и смертность)» и «Состояние онкологической помощи населению России в 2011-2021 году», региональной программы

Псковской области: «Борьба с онкологическими заболеваниями», государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Псковской области в 2021 году», стратегии социально-экономического развития Псковской области до 2035 года, ЕМИСС Государственная статистика, а также статьи научно электронной библиотеки eLibrary.ru. В качестве анализа нами были выбраны следующие локализации - колоректальный рак (код по МКБ-10: С18, 19), молочная железа (код по МКБ-10: С50), трахея, бронхи, лёгкие (код по МКБ-10: С33,

34) и желудок (код по МКБ-10: С16), так как они занимают 39,5 % в общей структуре онкологической заболеваемости, где на долю колоректального рака приходится 12,2 %, молочной железы 12,1 %, трахеи, бронхов, лёгких 9,7 % и желудка 5,5 %. [4]

## Результаты исследования и их обсуждение

Мы оценили динамику заболеваемости и смертности в Псковской области и Российской Федерации в период с 2011 года по 2021 год, где была выявлена нестабильная динамика, характеризующаяся внезапным ростом и спадом заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований. Можно выделить несколько ключевых факторов, которые могли оказать влияние на динамику смертности от злокачественных новообразований. Первый из них - демографические особенности Псковской области, к которым относятся высокая доля лиц старших возрастных групп, высокая доля сельского населения и хуторный тип расселения. Следует отметить высокий уровень курения и алкоголизма в данной области. Не будем забывать о росте промышленности, активно развивающемся с 2011 года по 2021 год и вытекающими из этого последствиями. Псковская область занимает последнее место по Северо-Западному федеральному округу по средним показателям динамики численности взрослого населения, прошедшего I этап диспансеризации. Потеря кадров медицинского персонала также отражается на статистике. В завершении скажем о низкой эффективности экономики области, который в последующие годы не показывала положительной динамики.

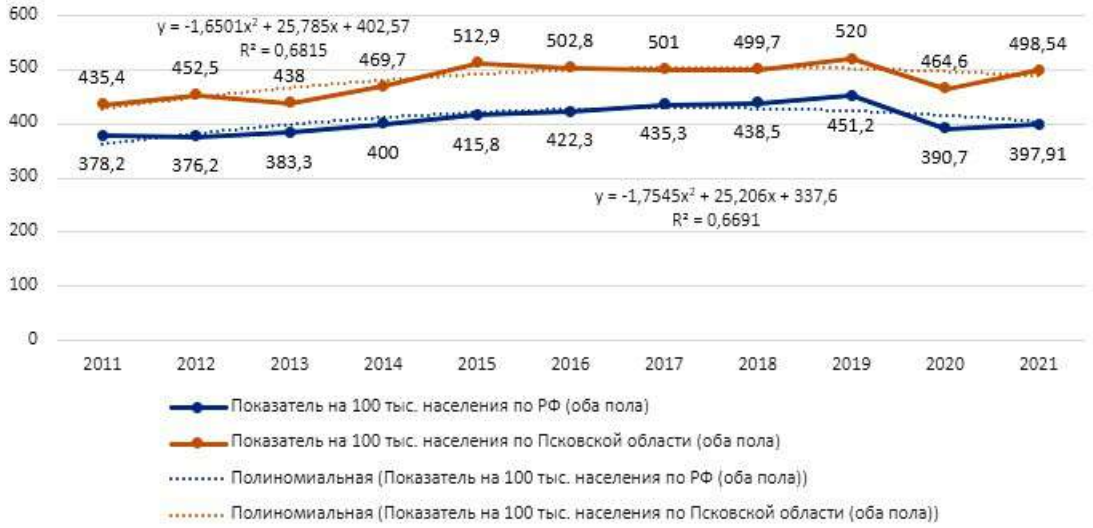



Рис. 1. Динамика первичной заболеваемости злокачественными новообразованиями в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год (оба пола), на 100 тыс. населения

Уровень первичной заболеваемости ЗНО населения Псковской области злокачественными новообразованиями остаётся высоким. В период с 2011 года по 2021 год мы наблюдаем волнообразное течение первичной заболеваемости, что привело к увеличению показателя на 14,5%. С 2011 года по 2019 год прослеживается прирост первичной заболеваемости ЗНО в Российской Федерации на 19,3% и последующем снижением показателя на 11,8% в 2021 году.
Первичная заболеваемость среди мужского населения Российской Федерации с 2011 года по 2019 год имеет тенденцию к росту (с 370,6 в 2011 году до 434,8 в 2019 году), что привело к увеличению показателя на 18,4%. С 2020 года по 2021 год идёт спад первичной заболеваемости ЗНО (2020-379,8; 2021-391,2) со снижением показателя на 10%. В Псковской области первичная заболеваемость мужского населения также имеет тенденцию к росту с 2011 года по 2021 год (с 414,9 в 2011 году до 482,23 в 2021 году) с конечным увеличением показателя на 16,2%.

Первичная заболеваемость среди женского населения Российской Федерации с 2011 года по 2019 год имеет тенденцию к росту (с 384,6 в 2011 году до 465 в 2019 году), что привело к увеличению показателя на 20,9%. С 2020 года по 2021 год идёт спад первичной заболеваемости ЗНО (2020-400;

2021-403,74) со снижением показателя на 13,2%. В Псковской области первичная заболеваемость женского населения также имеет тенденцию к росту с 2011 года по 2021 год (с 452,4 в 2011 году до 512,71 в 2021 году) с конечным увеличением показателя на 13,3% [4].

Рис. 2. Динамика смертности злокачественными новообразованиями в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год (оба пола), на 100 тыс. населения

Показатель смертности от ЗНО в Псковской области имеет тенденцию к росту с 2011 года по 2020 год, что привело к увеличению показателя на 7,5%, с последующим снижением показателя на 10,7% в 2021 году. С 2011 года по 2021 год прослеживается волнообразное течение смертности от ЗНО в Российской Федерации, что привело к снижению показателя на 5,5%.

Смертность от ЗНО среди мужского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к снижению (с 234,27 в 2011 году до 220,71 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 5,8%. В Псковской области смертность от ЗНО мужского населения имеет также тенденцию к снижению с 2011 года по 2021 год (с 303,36 в 2011 году до 280,34 в 2021 году, где имеется прирост смертности с 2017 года по 2020 год и дальнейшим снижением в 2021 году) с конечным снижением показателя на 7,6%.

Смертность от ЗНО среди женского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к снижению (с 175,22 в 2011 году до 165,73 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 5,4%. В Псковской области смертность от ЗНО женского населения не имеет тенденции к изменению (с 209,28 в 2011 году до 209,08 в 2021 году, где имеется прирост смертности с 2016 года по 2020 год и дальнейшим снижением в 2021 году). [4]

Первые места в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения Российской Федерации распределены следующим образом: опухоли трахеи, бронхов и лёгких (16,4%), колоректальный рак (12,8%), желудка (7%).

Рак молочной железы (22,1%) является ведущей онкологической патологией у женского населения, далее следуют колоректальный рак (11,8%), злокачественные новообразования желудка (4,2%), трахеи, бронхов и лёгких (4,1%). Максимальное число заболеваний приходится на возрастную группу 65-69 лет (18,1%): у мужчин − 20,6%, у женщин − 15,9%. В возрастной группе 60 лет и старше диагностируются 73,2% случаев заболевания в мужской и 66,3% в женской популяциях. В возрастной группе 30-59 лет наибольший удельный вес имеют злокачественные новообразования молочной железы (17,6%), колоректальный рак (9,3%), трахеи, бронхов и лёгких (7,7%), желудка (4,2%).

В структуре заболеваемости лиц пожилого возраста (60 лет и старше) превалируют колоректальный рак (13,7%), опухоли трахеи, бронхов и лёгких (10,7%), молочной железы (10%), желудка (6,2%). Средний возраст заболевших в 2021 г. составил 64,4 года, для мужчин – 64,9, для женщин – 63,9 года.

Максимальные показатели онкологической заболеваемости отмечены в Ярославской (529,3 на 100 тыс. населения), Сахалинской (527,1), Нижегородской (523,8), Брянской (511,9), Псковской (498,5) областях, Республике Карелия (497,5), Архангельской области (497,3), Алтайском крае (496,2), Ивановской области (495,6), Пензенской области (491,4); минимальные показатели – в республиках Дагестан (152,8), Чечня (161,2), Тыва (192,5), Ингушетия (196,0), Ленинградской области (221,0), Ямало-Ненецком (224,5), Ненецком (229,4), Чукотском (247,1) автономных округах, Республике Саха (Якутия) (253,8).

В структуре смертности населения Российской Федерации от злокачественных новообразований наибольший удельный вес составляют опухоли трахеи, бронхо и лёгких (16,8%), колоректальный рак (14%), опухоли желудка (9%), молочной железы (7,4%). Структура смертности от злокачественных новообразований мужского и женского населения имеет существенные различия. Четверть (25%) случаев смерти мужчин обусловлены раком трахеи, бронхов и лёгких, далее следуют колоректальный рак (12,4%), опухоли желудка (10,1%).

В структуре смертности женщин наибольший удельный вес имеют злокачественные новообразования молочной железы (15,8%) и колоректальный рак (15,8%). Далее следуют новообразования желудка (7,9%), трахеи, бронхов и лёгких (7,3%). За последние 10 лет средний возраст умерших увеличился с 66,3 до 67,6 лет: у мужчин-с 65,3 до 66,6 лет; у женщин-с 67,5 до 68,8 лет. Наиболее высокий «грубый» показатель смертности на 100 тыс. населения отмечен в Тульской (266,6), Псковской (242,2), Курганской (239,2), Брянской (237,5), Кемеровской (237,4), Курской (236,8), Костромской (234,1), Новосибирской (232,1) и Тверской (227,1) областях [4].

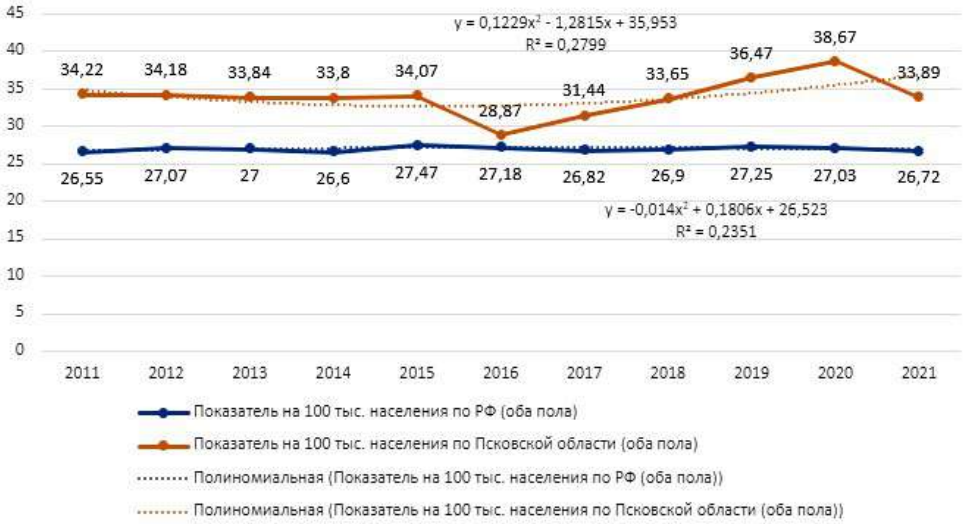



Рис. 3. Динамика смертности от колоректального рака в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год (оба пола), на 100 тыс. населения

Смертность от колоректального рака в Псковской области с 2011 года по 2016 год имеет тенденцию к снижению, что привело к снижению показателя на 15,6%. С 2016 года по 2020 год мы наблюдаем прирост смертности с увеличением показателя на 34%. С 2021 года мы наблюдаем снижение смертности от ЗНО с конечным снижением показателя на 12,4%. С 2011 года по 2021 год прослеживается волнообразное течение смертности от колоректального рака в Российской Федерации без тенденции к изменению.

Смертность от колоректального рака среди мужского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к росту (с 25,84 в 2011 году до 27,35 в 2021 году, где имеется прирост смертности с 2017 года по 2019 год и дальнейшим спадом), что привело к увеличению показателя на 5,8%. В Псковской области смертность от колоректального рака мужского населения имеет также тенденцию к росту с 2011 года по 2021 год (с 33,56 в 2011 году до 34,87 в 2021 году), что привело к увеличению показателя на 4%.

Смертность от колоректального рака среди женского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к снижению (с 27,16 в 2011 году до 26,17 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 3,7%. В Псковской области смертность от ЗНО женского населения также имеет тенденцию к снижению с 2011 года по 2021 год (с 34,79 в 2011 году до

33,03 в 2021 году, где имеется прирост смертности с 2016 года по 2020 год и снижением смертности в 2021 году) с конечным снижением показателя на 5,1%. [4]

Рис. 4. Динамика смертности от рака молочной железы в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год, на 100 тыс. населения

Смертность от рака молочной железы в Псковской области с 2011 года по 2021 год имеет волнообразное течение, но с тенденцией к росту с 2018 года по 2021 год, что привело к увеличению показателя на 7,8%. С 2011 года по 2021 год прослеживается снижение смертности в Российской Федерации, что привело к снижению показателя на 13,6% [4].

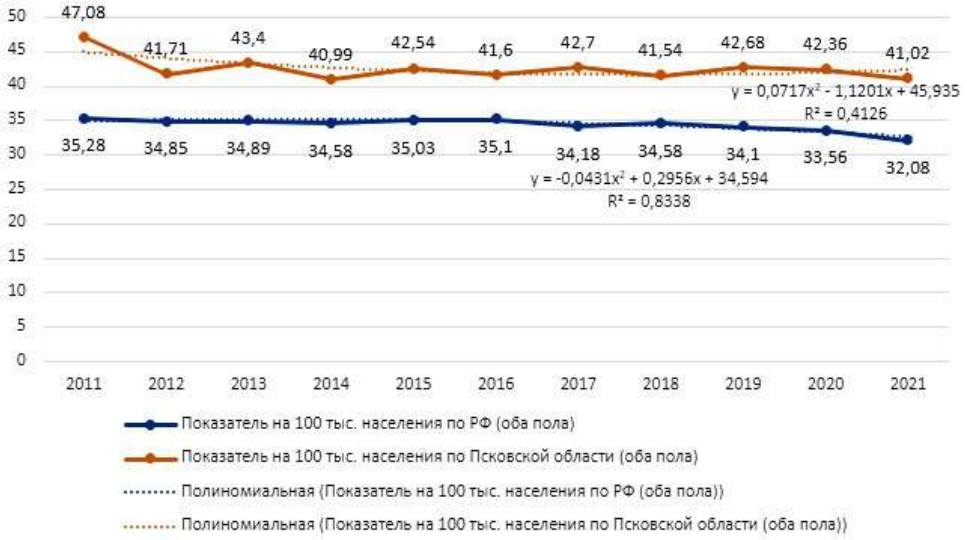



Рис. 5. Динамика смертности от рака трахеи, бронхов и лёгких в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год (оба пола), на 100 тыс. населения

Смертность от рака трахеи, бронхов и лёгких в Псковской области с 2011 года по 2021 год имеет волнообразное течение, но с тенденцией к снижению с 2019 года по 2021 год, что привело к снижению показателя на 3,2%. С 2011 года по 2021 год прослеживается волнообразное течение смертности от ЗНО в Российской Федерации, что в конечном итоге привело к снижению показателя на 9,1%.

Смертность от рака трахеи, бронхов и лёгких среди мужского населения Российской Федерации с 2011 года по 2017 год имеет тенденцию к снижению (с 63,17 в 2011 году до 55,13 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 12,7%. В Псковской области смертность от ЗНО мужского

населения также имеет тенденцию к снижению с 2011 года по 2021 год (с 90,26 в 2011 году до 72,18 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 20% [4].

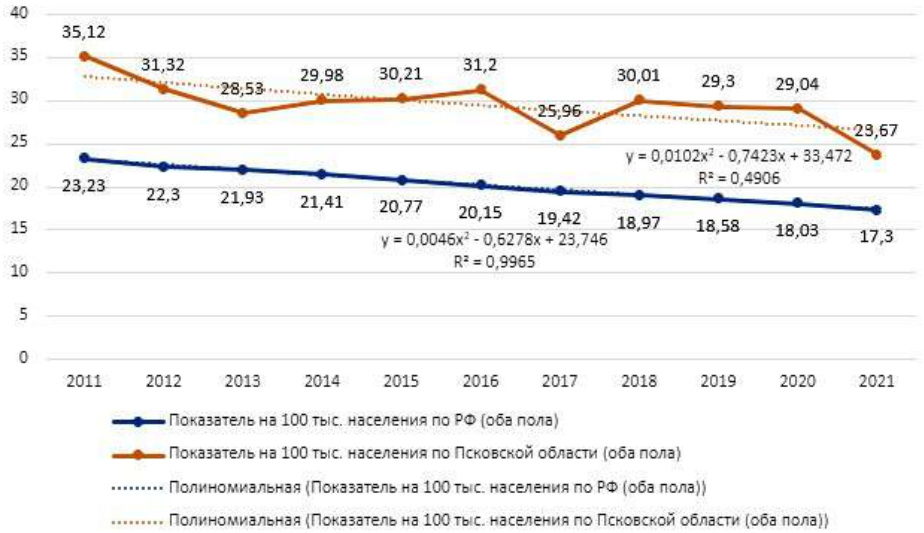



Рис. 6. Динамика смертности от рака желудка в Псковской области и Российской Федерации с 2011 по 2021 год (оба пола), на 100 тыс. населения

Смертность от рака желудка в Псковской области с 2011 года по 2021 год имеет волнообразное течение, но с тенденцией к снижению с 2018 года по 2021 год, что привело к снижению показателя на 21,1%. С 2011 года по 2021 год прослеживается снижение смертности от ЗНО в Российской Федерации, что привело к снижению показателя на 25,5%. Смертность от рака желудка среди мужского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к спаду (с 28,79 в 2011 году до 22,21 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 22,9%. В Псковской области смертность от ЗНО мужского населения имеет также тенденцию к спаду с 2011 года по 2021 год (с 44,31 в 2011 году до 27,2 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 38,6%. Смертность от рака желудка среди женского населения Российской Федерации с 2011 года по 2021 год имеет тенденцию к спаду (с 18,45 в 2011 году до 13,05 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 29,2%. В Псковской области смертность от ЗНО женского населения имеет также тенденцию к спаду с 2011 года по 2021 год (с 27,33 в 2011 году до 20,61 в 2021 году), что привело к снижению показателя на 24,5%. [4]

Удельный вес случаев колоректального рака, выявленных на I стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет тенденцию к росту, где показатели 2011 года составили 14,4 и 5,1, а показатели 2021 года составили 27,9 и 22,6.

Доля случаев рака молочных желёз, выявленных на I стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год, %: имеет тенденцию к росту в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 18,5, а показатель 2021 года составил 27,7. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 13,2, 2021 года – 19,4, а максимальный показатель составил 26,7 в 2017 году.

Объём случаев рака трахеи, бронхов и лёгких, выявленных на I стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет тенденцию к росту в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 10,7, а показатель 2021 года составил 15,4. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 6,7, 2021 года – 9,8, максимальный показатель составил 11,3 в 2018 году, а минимальный показатель составил 3,8 в 2012 году.

Процент случаев рака желудка, выявленных на I стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола): имеет тенденцию к росту в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 8,4, а показатель 2021 года составил 14,4. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 4,6, 2021 года – 7,1, максимальный показатель составил 11 в 2020 году, а минимальный показатель составил 4,4 в 2018 году.

Удельный вес случаев колоректального рака, выявленных на II стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет волнообразное течение в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 73,7, 2021 года – 72, максимальный показатель

составил 77,6 в 2015 году, а минимальный показатель составил 71,2 в 2020 году. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 68,3, 2021 года – 72,9, максимальный показатель составил 79,7 в 2017 году, а минимальный показатель составил 55,3 в 2020 году.

Доля случаев рака молочных желёз, выявленных на II стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год, %: имеет тенденцию к спаду в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 46,5, а показатель 2021 года составил 44,8. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 51,8, 2021 года – 53,2, а минимальный показатель составил 39,4 в 2015 году.

Объём случаев рака трахеи, бронхов и лёгких, выявленных на II стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет волнообразное течение в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 16,1, 2021 года – 14,2, максимальный показатель составил 16,2 в 2016 году, а минимальный показатель составил 13,8 в 2020 году. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 14,8, 2021 года – 18,2, а минимальный показатель составил 8,1 в 2017 году и 2018 году.

Процент случаев рака желудка, выявленных на II стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола): имеет тенденцию к росту в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 18,9, а показатель 2021 года составил 23,8. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 13,8, 2021 года – 17,9, максимальный показатель составил 22,9 в 2016 году, а минимальный показатель составил 13,6 в 2020 году.

Удельный вес случаев колоректального рака, выявленных на III стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет волнообразное течение в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 53,6, 2021 года – 49,5, а минимальный показатель составил 47 в 2018 году. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 58,5, 2021 года – 49,7, максимальный показатель составил 65,3 в 2015 году, а минимальный показатель составил 47,4 в 2016 году.

Доля случаев рака молочных желёз, выявленных на III стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год, %: имеет тенденцию к спаду в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 24,8, а показатель 2021 года составил 19. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 24,6, 2021 года – 18,8, максимальный показатель составил 25 в 2015 году, а минимальный показатель составил 17,5 в 2016 году.

Объём случаев рака трахеи, бронхов и лёгких, выявленных на III стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет тенденцию к спаду в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 32,3, а показатель 2021 года составил 27,3. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 36, 2021 года – 30,4, а максимальный показатель составил 36,6 в 2017 году.

Процент случаев рака желудка, выявленных на III стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола): имеет тенденцию к спаду в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 26,3, а показатель 2021 года составил 20,7. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 36,4, 2021 года – 29,8, а минимальный показатель составил 22,9 в 2013 году.

Удельный вес случаев колоректального рака, выявленных на IV стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет тенденцию к спаду в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 51,4, а показатель 2021 года составил 49. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 68,1, 2021 года – 54,7, максимальный показатель составил 71,2 в 2020 году.

Доля случаев рака молочных желёз, выявленных на IV стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год, %: имеет волнообразное течение в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 9,1, 2021 года – 8,1, максимальный показатель составил 9,2 в 2012 году, а минимальный показатель составил 7,5 в 2019 году. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 10,3, 2021 года – 8,6, максимальный показатель составил 14,4 в 2015 году, а минимальный показатель составил 6,7 в 2019 году.

Объём случаев рака трахеи, бронхов и лёгких, выявленных на IV стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет тенденцию к росту в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 36,8, а показатель 2021 года составил 42,3. Показатели Псковской области носят волнообразный характер, где показатель 2011 года составил 42,4, 2021 года – 41,6, максимальный показатель составил 51,3 в 2012 году.

Процент случаев рака желудка, выявленных на IV стадии, в Российской Федерации и Псковской области с 2011 по 2021 год (оба пола), %: имеет волнообразное течение в Российской Федерации, где показатель 2011 года составил 41,4, 2021 года – 40, минимальный показатель составил 38,9 в 2019 году. Показатели Псковской области варьируют, где показатель 2011 года составил 45,2, 2021 года – 45,2, максимальный показатель составил 51,1 в 2013 году, а минимальный показатель составил 32,2 в 2014 году [8].

Ведущие факторы риска, способствующие развитию злокачественных новообразований в Псковской области. К повышению возникновения случаев новообразований можно отнести демографические особенности Псковской области, оказывающие влияние на процессы организации оказания медицинской помощи: высокую долю в структуре населения лиц старших возрастных групп (доля лиц старше трудоспособного возраста – 29,3% при среднероссийском показателе 25,4%); высокую долю сельского населения (29,1% по сравнению с 25,6% в Российской Федерации); хуторной тип расселения – 5730 из 8269 населенных пунктов (69,3%) имеют численность населения менее 100 человек, что ограничивает возможность создания в них стационарных подразделений медицинских организаций и диктует необходимость максимального развития выездных форм работы [7]. В Псковской области доля лиц, потребляющих табак, составляет 29,7% [6]. Псковская область является одним из лидеров по заболеваемости алкоголизмом взрослого населения по Северо-Западному федеральному округу. [5] Темпы роста промышленности в Псковской области с 2011 года по 2021 год заметно возросли (Индекс производства накопительным итогом с 100 по 131.2) [6]. С 2011 года по 2017 год наблюдается рост числа выброшенных в атмосферу загрязняющих веществ, отходящих от стационарных источников, где показатель 2011 года составил 27,88 тыс. тонн, а показатель 2017 года составил 35,17 тыс. тонн [3].

На промышленных предприятиях Псковской области зафиксирована доля проб воздуха, превышающих ПДК, на пыли и аэрозоли, а также на пыли и аэрозоли, содержащие вещества 1 и 2 класса опасности в 2014 году 15% и 14%, а в 2015 году 21,1% и 24,1%, соответственно [2]. В 2015 году средняя индивидуальная доза природного облучения в расчёте на 1 жителя Псковской области составила 3,94, в то время как в России, этот показатель составил 3,31 [2].

Псковская область занимает последнее место по Северо-Западному федеральному округу по средним показателям динамики численности взрослого населения, прошедшего I этап диспансеризации, с учётом суммарного рейтинга охвата населения диспансеризацией в период с 2016 года по 2019 год. В Псковской области наблюдается самая высокая средняя ежегодная убыль выявляемых в процессе диспансеризации новообразований, в том числе злокачественных и in situ, в том числе 1-2 стадии [1]. В период с 2016 года по 2020 год сократилось количество врачей всех специальностей и количество среднего медицинского персонала, а также число посещений поликлинических медицинских учреждений [2].

Низкая эффективность экономики области. По данным рейтинга социально-экономического положения субъектов РФ, построенного экспертами Рейтингового агентства «РИА Рейтинг», Псковская область в 2019 году заняла 72 место. По сравнению с 2018 годом область опустилась на 1 позицию, и по-прежнему находится на последнем месте в СЗФО. Низкая позиция в рейтинге свидетельствует о низком уровне эффективности региональной экономики как в сравнении со всеми регионами Российской Федерации, так и среди регионов СЗФО [9].

## Выводы

1. Показатель общей заболеваемости в Псковской области выше аналогичного показателя по Северо-Западному федеральному округу и Российской Федерации в многолетней динамике. Показатель общей смертности в Псковской области выше аналогичного показателя по Северо-Западному федеральному округу и Российской Федерации в многолетней динамике.
2. Возможные факторы риска, проанализированных нами источников, которые могли оказать влияние на показатели заболеваемости и смертности в Псковской области, это демографические особенности Псковской области, курение, алкоголизм, рост промышленности, малая заинтересованность взрослого населения в диспансеризации, потеря кадров медицинского персонала и низкая эффективность экономики области.

### Литература (references)

1. Захарченко О.О., Терентьева Д.С., Сураева Н.А., Комаров Ю.И. Выявляемость злокачественных новообразований в процессе диспансеризации взрослого населения в Северо-Западном федеральном

округе в 2016-2019 годах. [Zaharchenko O.O., Terent'eva D.S., Suraeva N.A., Komarov Ju.I. *Vyjavljaemost' zlokachestvennyh novoobrazovanij v processe dispanserizacii vzroslogo naselenija v Severo-Zapadnom federal'nom okruge v 2016-2019 godah. Detectability of malignant neoplasms in the process of adult population dispensurization in the North-Western federal district in 2016-2019.* (in Russian)]

2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Псковской области в 2021 году». [*Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija v Pskovskoj oblasti v 2021 godu».* State report "On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Pskov Oblast in 2021". (in Russian)]
3. ЕМИСС Государственная статистика. URL: https://www.fedstat.ru/ [*EMISS Gosudarstvennaja statistika.* EMISS Government statistics. URL: https://www.fedstat.ru/ (in Russian)]
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2011-2021 году (заболеваемость и смертность). – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. [Kaprin A.D., Starinskij V.V., Shahzadova A.O. *Zlokachestvennye novoobrazovanija v Rossii v 2011-2021 godu (zabolevaemost' i smertnost').* Malignant neoplasms in Russia in 2011-2021 (morbidity and mortality). – M.: P.A. Herzen MNIOI - branch of FGBU "NMC Radiology" of the Ministry of Health of Russia. (in Russian)]
5. Глушкова А.В., Карелин А.О., Еремин Г.Б. Злоупотребление взрослого населения алкоголем как маркёр социально-экономического неблагополучия территории. [Glushkova A.V., Karelin A.O., Eremin G.B. *Zloupotreblenie vzroslogo naselenija alkogolem kak markjor social'no-jekonomicheskogo neblagopoluchija territorii.* Adult alcohol abuse as a marker of socio-economic disadvantage of the territory. (in Russian)]
6. Надымили: как меняется уровень курения в России. URL: https://60.rosstat.gov.ru/folder/73276/document/87475 [*Nadymili: kak menjaetsja uroven' kurenija v Rossii.* Fuming: how smoking rates are changing in Russia. URL: https://60.rosstat.gov.ru/folder/73276/document/87475 (in Russian)]
7. Постановление администрации Псковской области от 24 июня 2019 года №247 об утверждении региональной программы Псковской области: «Борьба с онкологическими заболеваниями». [*Postanovlenie administracii Pskovskoj oblasti ot 24 ijunja 2019 goda №247 ob utverzhdenii regional'noj programmy Pskovskoj oblasti: "Bor'ba s onkologicheskimi zabolevanijami".* Resolution of the Administration of the Pskov region of June 24, 2019 №247 on approval of the regional program of the Pskov region: "Fighting Oncologic Diseases". (in Russian)]
8. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2011-2021 году. − М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. [Kaprin A.D., Starinskij V.V., Shahzadova A.O. *Sostojanie onkologicheskoj pomoshhi naseleniju Rossii v 2011-2021 godu.* State of oncological care for the Russian population in 2011-2021. – M.: P.A. Herzen MNIOI - branch of FGBU "NMC Radiology" of the Ministry of Health of Russia. (in Russian)]
9. Стратегия социально-экономического развития Псковской области до 2035 года. [*Strategija social'no-jekonomicheskogo razvitija Pskovskoj oblasti do 2035 goda.* Strategy of socio-economic development of the Pskov Oblast until 2035. (in Russian)]
10. The World Cancer Research Fund International's Academy. URL: https://www.wcrf.org/

**Информация об авторах**

*Санников Анатолий Леонидович* – профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой общественного здоровья, здравоохранения и социальной работы ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: jsannikov@yandex.ru

*Пономарёв Артём Сергеевич* – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: artiom.ponomariov.2001@mail.ru

*Зеленых Данил Владимирович* – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.11.2023

Принята к печати 15.12.2023

**РАЗНОЕ**

*УДК 159.9* 3.2.5 Медицинская психология

*DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.33 EDN: XREPJO*

# SIGNIFICANCE OF PSYCHOLOGICAL STUDIES IN ASSESSMENT OF STRESS TOLERANCE AND SOCIAL FRUSTRATION IN MEDICAL AND PHARMACEUTICAL STUDENTS AND IN MANAGEMENT OF PHARMACIES' TEAMS

**© Ulasen T.V., Starodubtsev N.N., Krikova A.V., Zaitseva V.M.**

*Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia*

*Резюме*

**Objective.** The aim of our study was to access significance of psychological studies in management of pharmacy teams, as well as to explore correlations of stress resistance and social frustration in medical and pharmaceutical students.

**Methods**. Anonymous psychological testing of sixty-four students of Smolensk State Medical University has been performed. Face-to-face interviewing of pharmaceutical companies' employees with different forms of ownership in the city of Smolensk was conducted as well. A questionnaire with blocks of questions concerning the microclimate in the teams and relationships between employers and their employees was designed. The questionnaire is a method that provides written answers to a system of questions, each of which is related to the central objective of the study. In the anonymous survey, twenty-five respondents participated including four Heads of Pharmacies (16%), and 21 pharmacists (84%).

**Results.** The article presents results of the study identifying rates of stress, social frustration, aggressive manifestations and the sense of loneliness in medical and pharmaceutical students. The data obtained testify to high stress resistance in the respondents. The correlations between social frustration and hostility, between dissociated loneliness and aggressiveness can be regarded as reliable markers of developing manifestations of social and psychological maladaptation and boost further studies. Collective nature of activities is characteristic of pharmaceutical companies. In this connection, the efficiency of the company's activity depends on both organizational behavior of employees, and activities of managerial staff.

**Conclusion.** The received data testifies to high stress-resistance in medical and pharmaceutical students. At the same time, the correlations between social frustration and hostility, between dissociated loneliness and aggressiveness should be regarded as possible markers of the development of social and psychological maladaptation manifestations. The structure of company's management is known to be a form of delegation of formal authorities between employees; the ability of the Head of a pharmaceutical company to estimate the significance and priority of professional tasks facing the company is fundamental. Microclimates of pharmaceutical companies in the city of Smolensk were studied. Employees of the companies constitute certain groups, the joint activities of which are focused on achieving common and coordinated goals aimed at effective financial and economic results.

*Keywords:* stress, social frustration, maladaptation, pharmaceutical management

# ЗНАЧИМОСТЬ ПСИХОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ И СОЦИАЛЬНОЙ ФРУСТРИРОВАННОСТИ У ОБУЧАЮЩИХСЯ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА И В УПРАВЛЕНИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ КОЛЛЕКТИВОМ

Уласень Т.В., Стародубцев Н.Н., Крикова А.В., Зайцева В.М.

*Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

*Резюме*

**Цель.** Определение роли и места психологии в вопросах организации и проблемах управления фармацевтическим коллективом, а также изучить варианты взаимосвязи стрессоустойчивости и социальной фрустрированности у обучающихся.

**Методика.** Проведено анонимное психологическое тестирование 64 студентов, обучающихся в Смоленском государственном медицинском университете. В исследовании использовался метод очного интервьюирования сотрудников фармацевтических организаций г. Смоленска разной формы собственности. Анкета состояла из блоков вопросов, касающихся микроклимата в коллективе и отношения подчинённых с руководством. Анкета – метод исследования, предусматривающий письменные ответы на систему поставленных вопросов, каждый из которых связан с центральной задачей исследования. В анонимном анкетировании также приняли участие 25 человек – заведующие аптеками 4 человека (16%), фармацевты 21 человек (84%).

**Результаты.** В статье представлены результаты изучения уровней стресса, социальной фрустрированности, агрессивных проявлений и чувства одиночества у обучающихся медицинского вуза. Полученные данные свидетельствуют о высокой стрессоустойчивости респондентов. Выявленные корреляционные связи между социальной фрустрированностью и враждебностью, между диссоциированным одиночеством и агрессивностью могут расцениваться как возможные маркеры формирующихся проявлений социально-психологической дезадаптации, что объясняет необходимость дополнительных исследований. Для фармацевтических организаций свойственен коллективный характер работы. В связи с этим, эффективность ее деятельности зависит не только от организационного поведения сотрудников, но и от деятельности руководителя.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о высокой стрессоустойчивости у обучающихся. Вместе с тем, выявленные корреляционные связи между социальной фрустрированностью и враждебностью, между диссоциированным одиночеством и агрессивностью должны расцениваться как возможные маркеры формирующихся проявлений социально-психологической дезадаптации. Установлено, что структура управления предприятием представляет собой форму разделения должностных полномочий между работниками, основополагающим является умение руководителя фармацевтической организаций оценивать важность и приоритетность стоящих перед организацией профессиональных задач. деятельность является его перед ним задач в своей трудовой практике. Изучен микроклимат фармацевтических организаций г. Смоленска. Сотрудники организации составляют сплоченный коллектив во главе с заведующим аптекой, совместная деятельность которой ориентирована на достижение целей фармацевтических организаций, направленных на осуществление эффективной деятельности.

*Ключевые слова:* стресс, социальная фрустрированность, дезадаптация, фармацевтический менеджмент

## Introduction

In any social and economic conditions, the role of human assets is known to be fundamental. According to a number of authors [4, 5], in today's environment, proper management is directly related to the increasing role of human factors. The pharmaceutical sector brings together highly qualified specialists, where the main condition for financial success is a competent human resources policy. The period of import substitution in Russia is characterized by dynamic changes in the legislative context, external environment, implementation of innovative techniques in pharmaceutical service, high competition in the retail sector and demanding customers. Trends of recent years have imposed new requirements both to the pharmaceutical staff [12], and to senior managers of the pharmaceutical industry in human resource management [15]. Under these conditions the relevance of the issues related to the training of higher school graduates in the specialty "Pharmacy" becomes evident. It is important to assess rates of stress, social frustration, aggressive manifestations and loneliness in pharmaceutical students at their initial stage, because the consequences of social frustration, in particular manifestations of emotional burnout syndrome can develop already during the course of training, but most noticeably manifest themselves after the first year of independent work as a specialist [14].

The aim of the study was to assess significance of psychological studies in management of pharmaceutical teams, as well as to explore options for the relationship of stress resistance and social frustration in students.

## Methods

An anonymous psychological testing of sixty-four Smolensk State Medical University students has been conducted. The following psychodiagnostic methods were used: 1) A.O. Prokhorov's method was used to

diagnose the rates of stress, which allows determining the degree of self-control and emotional lability in stressful conditions [10]; 2) L.I. Wasserman's method, modified by V.V. Boyko to access social frustration (mental tension caused by dissatisfaction with one's achievements and position in social conditions), [1]; 3) the Cook scale was used to identify the rates of cynicism, aggressiveness, and hostility; 4) S.G. Korchagin's method was used to determine the depth and type of loneliness [8].

Statistical analysis was performed using analysis of sample estimates of mean and standard deviation, Spearman rank correlation coefficient. Correlations were assessed using the Cheddock scale [6].

The study involved the method of face-to-face interviewing of pharmaceutical employees. The companies had different forms of ownership. The survey consisted of six questions concerning the microclimate in the team and the relationship of the subordinates with the management. The questionnaire is a research method that provides written answers to a system of questions, each of which is related to the central objective of the research [9]. Twenty-five people participated in an anonymous survey including four Heads of Pharmacies (16%), pharmacists and 21 pharmacists (84%).

## Results

During the study, conducted in the period of Covid-19 pandemic, the rate of students' stress tolerance was M (SD) 3, 5 (1, 50), indicating a high level of regulation abilities in stressful situations. Despite adaptation to new educational (compared to secondary school requirements) and living conditions (in most cases moving from another city), intragroup student processes, prolonged epidemiological situation of coronavirus infection, the rate of social frustration in the examined students was really low M(SD) 1,14 (0,54). The data testify to good stress-resistance abilities in students and the ability to adapt quickly to changes in external environment. Correlation between rates of stress and social frustration according to Spearman's coefficient was not revealed (r=-0, 11; p=0, 3503).

Since one of the forms of escape from a frustrating situation is hostile and aggressive tendencies, we have conducted a survey of students with the Cook-Medley hostility scale. The technique is aimed at identification of hostility rates with three scales including cynicism, aggressiveness, and hostility. The scale of cynicism largely reflects negative attitudes towards other people; the scale of hostility accesses the tendency to experience negative emotions towards others, the scale of aggressiveness identifies tendencies to destructive behavioral reactions. For all three scales, average rates of expression of the studied parameter with a tendency to high rates were obtained. No correlations between the rates of stress and the indices of cynicism, aggressiveness and hostility were found in the group under study (Table 1). At the same time, a negative moderate relationship on the Cheddock scale between the rates of social frustration and hostility was revealed (r=-0, 35; p=0, 0037), which must be taken into account in psychological counseling of students on adaptation to higher education environment and requirements.

Table 1. Correlations between rates of stress and hostility according to Cook-Medley scale (n=64; using Spearman coefficient)

| Type of correlation | Spearman coefficient r | p |
|---|---|---|
| Cynicism is a level of stress | r= -0,13 | p=0,2876 |
| Aggressiveness - stress rates | r=-0,21 | p=0,0917 |
| Hostility is a level of stress | r=-0,15 | p=0,2198 |

Over time, development of social and psychological dissatisfaction can lead to the formation of subjectively experienced feeling of loneliness. In order to determine the type of loneliness developed as a protective reaction to certain difficulties encountered and its rates in the reference students' group, a survey using Korchagin S.G. questionnaire was conducted. The following hierarchy of loneliness formed in response to frustrating circumstances in students associated with the adaptation in the university was revealed:

1. Dissociated Loneliness M(SD) 7,06 (2,77) can be manifested in anxiety, excitability and demonstrativeness of character, antagonism in conflicts, a combination of high and low empathy (with no average level), selfishness and submissiveness in interpersonal relations, which are certainly opposite tendencies. The feeling of loneliness in this case is acute, clear, conscious, and painful.
2. Alienating Loneliness M(SD) 6,53 (1,88). In this type of loneliness, there is a loss of meaningful connections and contacts, intimacy, privacy in communication and the ability to be united. The person feels abandoned and lost. Usually such people have distrust, suspicion, attributing bad intentions to

others, melancholy, depression and anxiety. The awareness of the impossibility to be listened to, understood and accepted often leads to belief in one's own uselessness and loss of interest in life. Often, thoughts of an autodestructive nature may arise.

3. A state of seclusion M(SD) 6,50 (2,74) is a controlled loneliness, characterized by the psychological stability of the individual in relation to the influences of society.
4. Diffuse Loneliness M(SD) 6,03 (2,39). People experiencing diffuse loneliness are characterized by suspiciousness in interpersonal relations and a combination of contradictory personal and behavioral characteristics: resistance and accommodation in conflicts; manifestations of excitability, anxiety and at the same time emotionality of character. Such people demonstrate absolute agreement with the opinions, principles, morals, interests of the person with whom they communicate. In this condition, a person begins to use mental resources of the people surrounding him or her. The conditions in which members of the working group interact affect the success of their joint activity, their satisfaction with the process and the results of their work. In particular, they include sanitary and hygienic conditions in which employees work: temperature mode, humidity, illumination, spaciousness of the room, availability of convenient workplace, etc. A huge value has also the character of mutual relations in the group and the dominant mood in it. Such concepts as "social and psychological climate", "psychological atmosphere", "social atmosphere", "organizational climate", "microclimate", etc. are used to designate the psychological state of a group [7].

The next stage of the study was assessment of the microclimate in pharmaceutical organizations. It is obvious that a favorable climate in a team is an incentive for employees in any organization, but especially in a pharmaceutical organization, because their professional activities involve communication, both counseling and mentoring.

Our anonymous survey involved twenty-five employees of pharmaceutical companies in the city of Smolensk. They were asked about their social and psychological environment.

The first two questions in the questionnaire concerned the way the staff was formed and their age range. The information provides an opportunity to speak about the coherence of activities in the team [13].

The age of pharmaceutical employees, (Fig.1) was mostly from 30 to 40 years: two (8%) individuals aged from 25 to 30; 16 (64%) individuals aged 31 – 40 years; 2 (8%) persons aged 41 – 50 years; over 51 years – 5 (20%) people.

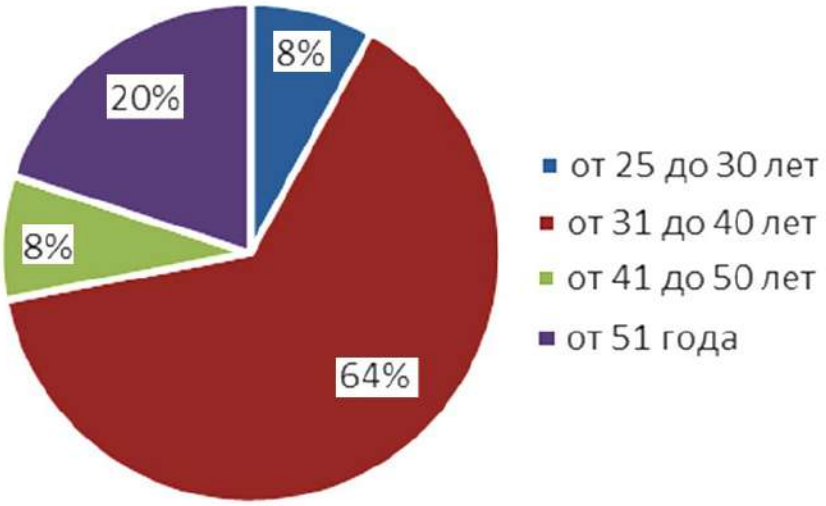



Figure 1. Age structure of pharmaceutical employees

The first block of questions in the questionnaire assessed vertical contacts and the relationship of supervisor-subordinate. When analyzing the obtained answers, it became obvious that not all employees (5 people, 20%), but almost all responded unambiguously that they fulfill the task of the superior regardless of the opinion about it. In sixty-four percent of cases employees noted that their Heads should apply for encouragement of employees, including material ones, solve problems, including personal ones. The questionnaire data addressed the question regarding the pharmacy manager's ability to feel the team and unify the tasks of the company.

According to the results of the survey regarding team capabilities and requirements for the team, sixteen of the respondents stated that real capabilities were often taken into account, which was 64% of the entire

team. The rest of the employees (36%) also gave positive answers regarding the requirements of superior management. All employees felt 100% psychological comfort with the requirements of their superiors.

The majority of employees (96%) stated that a manager is a leader who must be prepared for changing conditions both inside and outside the organization. Motivation (according to the respondents) is perhaps a change in leadership tactics and a change in demands for employees, as well as a change in working conditions. All (100%) respondents said that motivation implies both decent money and non-financial rewards. Subordinates are more interested in the democratic style of leadership, but 20% of respondents stated that sometimes the authoritarian style of leadership was not enough. When asked what kind of team was easier to lead, in their opinion, almost all (80%) responded that a small one.

In twenty present of cases respondents stated that certain traditions had been formed in the team and when a manager broke them it could lead to stressful and conflict situations. Therefore, the best variant, when the Head takes into account traditions of the company, readiness and ability of subordinates to carry out his\her decisions, is a successful choice of leadership style [11].

According to a number of authors, because there are different ways of motivation, a manager should be able to [16, 17]: first, establish a set of criteria (principles) that most strongly influence employee behavior; second, create an atmosphere conducive to motivating employees; thirdly, communicate with his/her employees actively, because in order for an employee to be fully motivated and work with full commitment, he/she should clearly understand what exactly is expected from him/her.

When asked what non-material incentives [2, 16] respondents would like to receive, the answers were in descending order: public recognition, praise, support and approval, internships, flexible work schedules, additional leave, but subject to meeting the plan. During the survey, it was found that the democratic style of leadership suits the team and it is easier to manage a small team, like a pharmacy. The leader should keep the traditions in the team and encourage employees in different ways. Some managers also need to establish strong vertical contact with subordinates for well-coordinated activities.

The next block of questions included questions about the desire or unwillingness of respondents to work in this team (Figure 2): twenty-four percent of respondents were not going to quit the team, 40% of respondents were not going to quit yet, but they think about it from time to time, and 36% of respondents were going to quit the team. Staff turnover is one of the indicators of the processes taking place in the team. Managers need to think about why it happens or will happen inevitably in their organization. To identify negative aspects in a team, it is necessary to conduct a SWOT analysis of weak and strong points in the activities of the company as a whole.

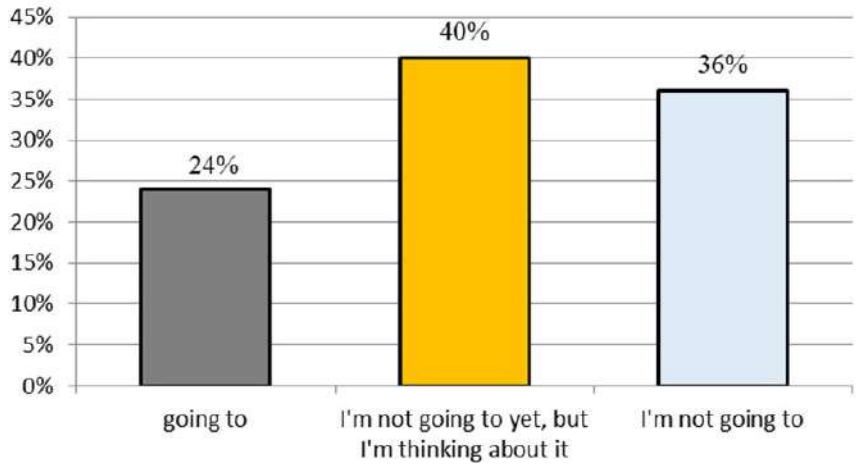



Figure 2. Willingness of pharmaceutical workers to work in these companies

The next block of questions included mentoring issues. Obviously, in many respects, the desire of a young specialist to remain in the team depends on the mentor. It is very important that mentors during production practices are able to transfer new experience and high professionalism to students.

Analyzing the respondents' answers, we concluded that all employees are interested in replenishing the team with young employees with higher education. The majority of respondents (80%) note a high level of training for students. They are interested in delving into the activities of the pharmaceutical institution, trying to adopt the entire experience of pharmaceutical employees, including in the aspect of consulting and informing.

## Results

Correlations between predominant types of loneliness and aggressive manifestations have been studied. A positive moderate correlation on the Cheddock scale between dissociated loneliness and aggression was revealed (r=0, 31; p=0, 0123), that must necessarily be taken into account in the construction of personalized psychological correction procedures and activities.

In the Russian Federation, a pharmaceutical company is a legal entity, regardless of its organizational and legal forms, engaged in pharmaceutical activities, for example, wholesale trade of pharmaceutical products. Individual entrepreneurs engaged in pharmaceutical activities are equated to pharmaceutical companies.

Pharmaceutical industry is currently developing dynamically and activities are aimed at fulfilling the country's strategic goals of improving the quality of life of the population and providing vital and essential medicines and other pharmaceutical products. In this regard, the efficiency of companies' activities depends on the coordinated work of all employees both horizontally and vertically.

Thus, any Head of a pharmaceutical company should realize that it is awareness and independence of decision-making, the ability to establish and prioritize the company's interests that can lead the company to higher levels in its development or lead out of the crisis.

Any company's manager needs comprehensive multifaceted knowledge and skills in such areas as administrative, innovative, industrial, environmental management, personnel management (moral - ethical), investment, creative, strategic management, crisis management, as well as in process, system and situational approaches.

## Conclusion

The data obtained testify to high stress-resistance rates in medical and pharmaceutical students. At the same time, correlations between social frustration and hostility, between dissociated loneliness and aggressiveness should be regarded as potential markers of social and psychological maladaptation.

Teams of pharmaceutical companies in the city of Smolensk are ready to assess the importance and parity of professional tasks facing the company, realize clearly fundamental significance of mentoring; their joint activities are generally aimed at the efficiency, although there are some employees thinking about dismissal.

## Литература (references)


1. Fetiskin N.P., Kozlov V.V., Manuilov G.M. Social-psychological diagnostics of the development of personality and small groups. – M.: Publishing house of the Institute of Psychotherapy. 2002. – 490 p.
2. Filosofova T.G. Competition and competitiveness / T.G. Filosofova. – MOSCOW: UNITY-DANA,2007. – 271 p.
3. https://psylab.info
4. https://science–education.ru/ru/article/view?id=18044. Singer O.A., Ilyasova A.V. Factors affecting the sustainable development of industrial enterprises // Modern problems of science and education. – 2015. – N1-1.
5. Human factor in quality management: an innovative approach to ergonomics management: textbook / V.I. DaI. Daniljak. – Moscow: Logos, 2011. – 336 p.
6. Kobzar A.I. Applied Mathematical Statistics. For engineers and scientists. MOSCOW: FIZMATLIT, 2006. – 816 p.
7. Konovalenko V.A. Psychology of personnel management / V.A. Konovalenko A.A. Solomatin – Moscow: Yurite, 2014. – 77 p.
8. Korchagina S. G. The psychology of loneliness. Moscow: MPSI, 2008, – 228 p.
9. Korolev L.M. Psychology of Management: Textbook / L.M. Korolev. – M.: Dashkov and K, 2016. – 188 p.
10. Kupriyanov R.V., Kuzmina Y.M. Psychodiagnostics of stress: a workshop. – Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kazan State Technological University. Kazan: Kazan State Technological University, 2012. – 212 p.
11. Kuznetsov S.L. Modern technologies of documentary support of management: textbook for universities / S.L. Kuznetsov – Moscow: MPEI Publishing House, 2010. – 56-57 p.

12. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 647n "On Approval of the Rules of Good Pharmacy Practice for Medicinal Products for Medical Use" dated August 31, 2016.
13. Rozamanova V.A. Psychology of management. Textbook / V.A. Rozamanova – Moscow: ZAO Business School "Intel–Synthesis", 1999. – 43 p.
14. Serezhkina E.V. Stress management in the workplace: an organizational approach // Russian Journal of Management. – 2019. – 17(2). – P.233-250.
15. Troshina E.V. Fundamentals of Management – Moscow: Knorus, 2010. – 488 p.
16. Vihanskiy O.S. Management / O.S. Vihinskiy, A.I. Naumov. – Moscow: Gardariki, 2002. – P. 89-111.
17. Yanova V.V. Economics / V.V. Janova – M.: Publishing house "Examin", 2007. – 382 p.

**Информация об авторах**

*Уласень Татьяна Валентиновна* – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой клинической психологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: ulasen.tatjana@yandex.ru

*Стародубцев Николай Николаевич* – старший преподаватель кафедры философии, биоэтики, истории медицины и социальных наук, начальник управления правового обеспечения ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: urist@smolgmu.ru

*Крикова Анна Вячеславовна* – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: anna.krikova@mail.ru

*Зайцева Вера Михайловна* – кандидат психологических наук, доцент кафедры лингвистики, начальник международного управления ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: verazaytseva@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.11.2023

Принята к печати 15.12.2023