

ISSN 2542-1174



**JOURNAL**  
**of SIBERIAN**  
**MEDICAL**  
**SCIENCES**

**1**  
**2020**

**OPEN**  
**ACCESS**

# JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Volume 1 (2020)

**ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА****Маринкин И.О.**, проф. (Россия)**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР****Поспелова Т.И.**, проф. (Россия)**ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА****Кузнецова В.Г.**, проф. (Россия)**Савченко С.В.**, проф. (Россия)**ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ****Максимова Е.А.** (Россия)**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ****Афтанас Л.И.**, акад. РАН (Россия)**Вагенленер Ф.**, проф. (Германия)**Власов В.В.**, акад. РАН (Россия)**Воевода М.И.**, акад. РАН (Россия)**Громб С.**, проф. (Франция)**Дорофеев С.Б.**, канд. мед. наук (Россия)**Дыгай А.М.**, акад. РАН (Россия)**Жданов В.В.**, проф. (Россия)**Мюир Х.А.**, проф. (США)**Нильсон П.М.**, проф. (Швеция)**Ружичка Т.**, проф. (Германия)**Семенов В.М.**, проф. (Беларусь)**Федерико М.**, проф. (Италия)**Черных Е.Р.**, акад. РАН (Россия)**Шайдаров М.З.**, проф., чл.-кор. НАН РК  
(Казakhstan)**Шкурупий В.А.**, акад. РАН (Россия)**CHAIR OF EDITORIAL COUNCIL****Marinkin I.O.**, Prof. (Russia)**EDITOR-IN-CHIEF****Pospelova T.I.**, Prof. (Russia)**DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF****Kuznetsova V.G.**, Prof. (Russia)**Savchenko S.V.**, Prof. (Russia)**EXECUTIVE SECRETARY****Maksimova E.A.** (Russia)**EDITORIAL COUNCIL****Aftanas L.I.**, Academician of RAS (Russia)**Wagenlehner F.**, Prof. (Germany)**Vlasov V.V.**, Academician of RAS (Russia)**Voevoda M.I.**, Academician of RAS (Russia)**Gromb S.**, Prof. (France)**Dorofeev S.B.**, Cand. Sci. (Med.) (Russia)**Dygay A.M.**, Academician of RAS (Russia)**Zhdanov V.V.**, Prof. (Russia)**Muir H.A.**, Prof. (USA)**Nilsson P.M.**, Prof. (Sweden)**Ruzicka T.**, Prof. (Germany)**Semenov V.M.**, Prof. (Belarus)**Federico M.**, Prof. (Italy)**Chernykh E.R.**, Academician of RAS (Russia)**Shaydarov M.Z.**, Prof., Corresponding Member of NAS RK  
(Kazakhstan)**Shkurupiy V.A.**, Academician of RAS (Russia)**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ****Биттер И.**, проф. (Венгрия)**Бьерклунд Йохансен Т.Е.**, проф. (Норвегия)**Галицкий Ф.А.**, проф. (Казakhstan)**Генералов И.И.**, проф. (Беларусь)**Зонова Е.В.**, проф. (Россия)**Карабинцева Н.О.**, проф. (Россия)**Климонтон В.В.**, проф. (Россия)**Ковынев И.Б.**, проф. (Россия)**Кондюрина Е.Г.**, проф. (Россия)**Кохно В.Н.**, проф. (Россия)**Краснов В.А.**, проф. (Россия)**EDITORIAL BOARD****Bitter I.**, Prof. (Hungary)**Bjerklund Johansen T.E.**, Prof. (Norway)**Galitsky F.A.**, Prof. (Kazakhstan)**Generalov I.I.**, Prof. (Belarus)**Zonova E.V.**, Prof. (Russia)**Karabinceva N.O.**, Prof. (Russia)**Klimontov V.V.**, Prof. (Russia)**Kovynev I.B.**, Prof. (Russia)**Kondyurina E.G.**, Prof. (Russia)**Kohno V.N.**, Prof. (Russia)**Krasnov V.A.**, Prof. (Russia)

---

**Кривцова Л.А.**, проф. (Россия)  
**Кульчавеня Е.В.**, проф. (Россия)  
**Логвинов С.В.**, проф. (Россия)  
**Мадонов П.Г.**, проф. (Россия)  
**Надеев А.П.**, проф. (Россия)  
**Новоселов В.П.**, проф. (Россия)  
**Овчинников А.А.**, проф. (Россия)  
**Осипенко М.Ф.**, проф. (Россия)  
**Петрек М.**, проф. (Чехия)  
**Потеряева Е.Л.**, проф. (Россия)  
**Соколова Т.М.**, проф. (Россия)  
**Хрянин А.А.**, проф. (Россия)  
**Чернов М.Ф.**, проф. (Япония)  
**Черных В.В.**, проф. (Россия)  
**Чикинев Ю.В.**, проф. (Россия)  
**Шпагина Л.А.**, проф. (Россия)  
**Яхонтов Д.А.**, проф. (Россия)

---

#### **УЧРЕДИТЕЛЬ**

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
Адрес: 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52  
Тел./факс: +7 (383) 222-32-04  
E-mail: [rector@ngmu.ru](mailto:rector@ngmu.ru)  
Web: [www.ngmu.ru](http://www.ngmu.ru)

---

#### **АДРЕС РЕДАКЦИИ**

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный просп., 52  
Тел./факс: +7 (383) 229-10-82  
E-mail: [mos@ngmu.ru](mailto:mos@ngmu.ru)  
Web: <http://jsms.ngmu.ru>

---

**Krivtsova L.A.**, Prof. (Russia)  
**Kulchavenya E.V.**, Prof. (Russia)  
**Logvinov S.V.**, Prof. (Russia)  
**Madonov P.G.**, Prof. (Russia)  
**Nadeev A.P.**, Prof. (Russia)  
**Novoselov V.P.**, Prof. (Russia)  
**Ovchinnikov A.A.**, Prof. (Russia)  
**Osipenko M.F.**, Prof. (Russia)  
**Petrek M.**, Prof. (Czechia)  
**Poteryaeva E.L.**, Prof. (Russia)  
**Sokolova T.M.**, Prof. (Russia)  
**Hryanin A.A.**, Prof. (Russia)  
**Chernov M.F.**, Prof. (Japan)  
**Chernykh V.V.**, Prof. (Russia)  
**Chikinev Yu.V.**, Prof. (Russia)  
**Shpagina L.A.**, Prof. (Russia)  
**Yahontov D.A.**, Prof. (Russia)

---

#### **FOUNDER**

Novosibirsk State Medical University  
Address: 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia  
Tel./fax: +7 (383) 222-32-04  
E-mail: [rector@ngmu.ru](mailto:rector@ngmu.ru)  
Web: [www.ngmu.ru](http://www.ngmu.ru)

---

#### **EDITORIAL OFFICE ADDRESS**

Novosibirsk State Medical University  
52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia  
Tel./fax: +7 (383) 229-10-82  
E-mail: [mos@ngmu.ru](mailto:mos@ngmu.ru)  
Web: <http://jsms.ngmu.ru>

---



## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Уф-спектрофотометрическое определение бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида**  
Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А.
- Эффективность ферментотерапии в комплексном лечении больных хроническим абактериальным простатитом (категории IIIa)**  
Кульчавеня Е.В., Баранчукова А.А.
- Организационно-фармацевтические аспекты совершенствования лекарственного обеспечения детей (на примере Санкт-Петербурга)**  
Наркевич И.А., Немытых О.Д., Медведева Д.М., Смехова И.Е., Ладутко Ю.М., Стрелков С.В.
- Растительные фенольные соединения в профилактике метаболических нарушений при интоксикации оксидами азота в эксперименте**  
Другова Е.С., Кушнерова Н.Ф., Мерзляков В.Ю., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В.
- Структурно-функциональное состояние сердца у больных пожилого возраста с сочетанной бронхообструктивной патологией и артериальной гипертензией**  
Третьяков С.В., Попова А.А., Дёмин А.А.
- Оценка влияния активности CYP3A на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью**  
Застрожин М.С., Смирнов В.В., Застрожина А.К., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Скрябин В.Ю., Шишицын В.В., Брюн Е.А., Сычев Д.А.
- Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов**  
Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г.
- Оценка эффективности новых вагинальных суппозиторий с густым экстрактом листьев шалфея лекарственного при лечении неспецифического вагинита в эксперименте**  
Юнусова И.А., Передерий Е.А., Телешова О.В., Бургело Е.В., Горяникова И.Н.
- Изучение высвобождения действующих веществ из гемостатического средства на гидрофильной основе**  
Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А.

### ОБЗОР

- Классификационные и диагностические аспекты патологии щитовидной железы на современном этапе (обзор литературы)**  
Пастернак И.А., Казачков Е.Л., Пастернак А.Е.
- Нутритивный статус и методы его оценки у больных на гемодиализе (обзор литературы)**  
Королева И.Е., Абрамова Е.Э., Тов Н.Л., Мовчан Е.А.

## CONTENTS

### ORIGINAL RESEARCHES

- 4 **Uv spectrophotometric determination of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl] sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl) sulfide**  
Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A.
- 17 **The effectiveness of enzyme therapy in the comprehensive treatment of patients with chronic abacterial prostatitis (category IIIa)**  
Kulchavenya E.V., Baranchukova A.A.
- 31 **Organizational and pharmaceutical aspects of improving medicinal provision of children (on the example of St. Petersburg)**  
Narkevich I.A., Nemyatykh O.D., Medvedeva D.M., Smekhova I.E., Ladutko Yu.M., Strelkov S.V.
- 44 **Plant phenolic compounds in prevention of metabolic disturbances during nitrogen oxides intoxication in experiment**  
Drugova E.S., Kushnerova N.F., Merzlyakov V.Yu., Fomenko S.E., Sprygyn V.G., Momot T.V.
- 55 **Structural and functional state of the heart in elderly patients with combined broncho-obstructive pathology and arterial hypertension**  
Tretyakov S.V., Popova A.A., Demin A.A.
- 65 **The estimation of influence of CYP3A activity on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorders comorbid with alcohol use disorder**  
Zastrozhin M.S., Smirnov V.V., Zastrozhina A.K., Grishina E.A., Ryzhikova K.A., Skryabin V.Yu., Shipitsyn V.V., Bryun E.A., Sychev D.A.
- 76 **A rationale for application of immobilized subtilisines for target therapy of venous thrombosis**  
Mishenina S.V., Baykalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G.
- 89 **Evaluation of the efficacy of new vaginal suppositories with garden sage leaves solid extract in treatment of non-specific vaginitis in experiment**  
Yunusova I.A., Perederiy E.A., Teleshova O.V., Burgelo E.V., Goryanikova I.N.
- 100 **The study of the release of active substances from hemostatic agent on hydrophilic basis**  
Barsukova Yu.N., Melnikova O.A.

### REVIEW

- 108 **Classification and diagnostic aspects of thyroid pathology at the present stage (literature review)**  
Pasternak I.A., Kazachkov E.L., Pasternak A.E.
- 116 **Nutritional status and methods of its evaluation in patients on hemodialysis (literature review)**  
Koroleva I.E., Abramova E.E., Tov N.L., Movchan E.A.

## Уф-спектрофотометрическое определение бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида

Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

## Uv spectrophotometric determination of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide

Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A.

Novosibirsk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид — фенольные серосодержащие антиоксиданты. Цель настоящего исследования — разработка спектрофотометрических методик для установления подлинности и количественного определения этих субстанций. В ходе валидации методики построены калибровочные графики для оценки линейности в диапазоне концентраций 0.001–0.01 % для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.0005–0.005 % — для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида. Коэффициент корреляции для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида составил 0.999, для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида — 0.996; предел обнаружения, рассчитанный с помощью данных калибровочного графика, составил  $3.14 \cdot 10^{-5}$  и  $3.75 \cdot 10^{-5}$  %, предел количественного обнаружения — 0.00103 и 0.00108 % для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно. Величина относительного стандартного отклонения (RSD) при оценке прецизионности обеих методик не превысила допустимых 2 %.

Таким образом, разработанные методики могут использоваться для установления подлинности и количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида.

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, антиоксидант, валидация методики.

### ABSTRACT

Bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are new phenolic sulfur-containing antioxidants. The purpose of this study is to develop spectrophotometric techniques for establishing the authenticity and quantification of these substances. During the validation of the procedure, calibration graphs were constructed to assess linearity at concentrations ranging from 0.001 to 0.01% for bis [3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and from 0.0005 to 0.005% for dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The correlation coefficient for bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide was 0.999, for dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide — 0.996; the detection limit calculated using the calibration graph data was  $3.14 \cdot 10^{-5}$  and  $3.75 \cdot 10^{-5}$ %, the limit of quantification was 0.00103 and 0.00108% for bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl] sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide respectively. The value of relative standard deviation (RSD) in assessing the precision of both methods did not exceed the permissible 2%.

Thus, the developed methods can be used to establish the authenticity and for the quantification of bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

**Keywords:** spectrophotometry, antioxidant, method validation.

Поступила 11.10.2019  
Принята 05.11.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Шинко Татьяна Геннадьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

Received 11.10.2019  
Accepted 05.11.2019

\*Corresponding author  
Shinko Tatyana Gennadyevna: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид — фенольные серосодержащие антиоксиданты, разработанные на кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» совместно с ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» СО РАН. Предварительные испытания показали, что бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид способны нейтрализовать свободные радикалы в организме человека, избыток которых угнетает защитные функции иммунной системы, приводит к повреждению клеток и препятствует их восстановлению; активируют регенераторные процессы на клеточно-мембранном уровне и являются эффективным индуктором ключевых ферментов биотрансформации. На основании указанных свойств предполагается возможная эффективность бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида при комплексном лечении доброкачественных (миомы, фибромы, липомы и др.) и злокачественных (рак молочной железы, легких, печени и др.) новообразований, заболеваний печени (гепатиты, циррозы), воспалительных процессов (гастрит, дуоденит, холецистит и др.), ишемической болезни сердца. Таким образом, бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид могут рассматриваться в качестве перспективных лекарственных субстанций.

К качеству фармацевтических субстанций предъявляются серьезные требования, которые реализуются в виде комплексной стандартизации субстанций по различным показателям, таким как подлинность, растворимость, количественное определение, наличие примесей и др. Соответствие производимых субстанций и лекарственных препаратов стандартам качества подтверждается путем проведения фармацевтического анализа с применением специально разработанных методик. Для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида, как перспективных фармацевтических субстанций, еще не установлены параметры стандартизации и, соответственно, не разработаны методики, позволяющие с необходимой специфичностью, точностью и прецизионностью оценить качество данных субстанций.

## INTRODUCTION

Bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are phenolic sulfur-containing antioxidants developed at the Department of Organic Chemistry of Novosibirsk State Pedagogical University in conjunction with the Novosibirsk Institute of Organic Chemistry named after N.N. Vorozhtsov. Preliminary tests showed that bis-[(3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide can neutralize free radicals in the human body, an excess of which inhibits the protective functions of the immune system, leads to cell damage and prevents their recovery; activate regenerative processes at the cell-membrane level and are an effective inducer of key biotransformation enzymes. Based on these properties, it is suggested that bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide may be effective in the comprehensive treatment of benign (myomas, fibromas, lipomas etc.) and malignant (breast, lung, liver etc.) tumors, liver diseases (hepatitis, cirrhosis), inflammatory processes (gastritis, duodenitis, cholecystitis etc.), coronary heart disease. Thus, bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide can be considered as promising drug substances.

Serious requirements are placed on the quality of pharmaceutical substances, which are implemented in the form of a comprehensive standardization of substances with respect to various parameters, such as authenticity, solubility, quantitative evaluation, presence of impurities etc. The compliance of the produced substances and drugs with quality standards is confirmed by pharmaceutical analysis using specially developed methodologies. So far no standardization parameters and, accordingly, no methods have been developed, that allow to assess the quality of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, as promising pharmaceutical substances, with necessary specificity, accuracy and precision.

## AIM OF THE RESEARCH

Selection of spectrophotometric conditions for the quantitative determination and authentication of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The method of spectrophotometry

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Подбор спектрофотометрических условий для количественного определения и установления подлинности бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида. Метод спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне (УФ-спектрофотометрии) был выбран, поскольку является надежным и в то же время простым в исполнении. Кроме того, анализ химической структуры исследуемых субстанций показал возможность применения данного метода в их фармацевтическом анализе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Прибор.** Спектры поглощения и значения оптической плотности получены на однолучевом автоматизированном спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

**Материалы.** В качестве объекта исследования использовали образцы субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида серии 54050 и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида серии 53280, предоставленные НИИ химии антиоксидантов (Новосибирск). Для приготовления растворов исследуемой субстанции использовался спирт этиловый 95%.

**Валидация аналитической методики.** В рамках валидации разрабатываемых методик проводилась оценка их специфичности, прецизионности (повторяемости), линейности, правильности, пределов обнаружения и количественного определения [1, 2]. Валидацию методик проводили в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», обработку результатов — в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [1].

При оценке специфичности методик сравнивались ультрафиолетовые (УФ) спектры растворов исследуемых субстанций и УФ-спектры эквивалентных смесей растворителей без добавления исследуемых субстанций. УФ-спектр смесей растворителей не должен обнаруживать максимумов и минимумов поглощения, характерных для УФ-спектров бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида.

**Прецизионность (повторяемость/сходимость).** Оценивалось относительное стандартное отклонение (RSD, %) между результатами 10 повторений измерения оптической плотности 0.005 и 0.002% растворов бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]суль-

in the ultraviolet range (UV spectrophotometry) was chosen because it is reliable and at the same time simple to perform. In addition, analysis of the chemical structure of the investigated substances showed the possibility of using this method in their pharmaceutical analysis.

## MATERIALS AND METHODS

**The device.** Absorption spectra and optical density values were obtained on a single-beam automated spectrophotometer SF-56 (OKB Spectrum, Russia).

**Materials.** As an object of research, we used samples of substances of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide series 54050 and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide series 53280 provided by the Research Institute of Chemistry of Antioxidants (Novosibirsk). Ethyl alcohol 95% was used to prepare solutions of the test substance.

**Validation of analytical methods.** As part of the validation of the developed methods, their specificity, precision (repeatability), linearity, accuracy, detection limits and quantitative determination were assessed [1, 2]. The methods were validated in accordance with the General Pharmacopoeial Article (GPA) 1.1.0012.15 “Validation of Analytical Methods”, the results were processed in accordance with the GPA 1.1.0013.15 “Statistical Processing of the Results of a Chemical Experiment” [1].

When assessing the specificity of the methods, the ultraviolet (UV) spectra of the solutions of the studied substances and the UV spectra of equivalent solvent mixtures without adding the studied substances were compared. The UV spectrum of solvent mixtures should not show the absorption maxima and minima characteristic of the UV spectra of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

**Precision (repeatability / convergence).** The relative standard deviation (RSD, %) between the results of 10 replicates of the measurement of the optical density of 0.005% and 0.002% solutions of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide respectively was evaluated. RSD should not exceed 2% [3].

To establish linearity, 10 solutions of the test substance in 95% ethanol were prepared in the concentration range of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide 0.001–0.01%

фида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно. RSD не должно превышать 2 % [3].

Для установления линейности были приготовлены 10 растворов исследуемой субстанции в 95% этиловом спирте в диапазоне концентраций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида 0.001–0.01 % и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида — 0.0005–0.005 %. Калибровочный график построили на основе данных измеренных оптических плотностей растворов относительно их номинальной концентрации. Оценку линейности проводили по значению коэффициента корреляции ( $r \geq 0.990$ ), рассчитанного по методу наименьших квадратов.

Правильность методик количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида оценивалась на основании соответствия линейности и прецизионности установленным критериям приемлемости и статистически незначимого отличия свободного члена уравнения линейной зависимости от нуля [4, 5]

$$a < t(95\%, n - 2) \cdot S_a, \quad (1)$$

где  $a$  — свободный член уравнения линейной зависимости;

$t$  — коэффициент Стьюдента;

95 % — доверительная вероятность;

$n$  — количество измерений;

$S_a$  — стандартное отклонение свободного члена линейной зависимости.

Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) рассчитывались для обеих исследуемых субстанций на основе данных соответствующего калибровочного графика, согласно уравнениям (2) и (3):

$$\text{ПО} = 3.3Sy / a; \quad (2)$$

$$\text{ПКО} = 10Sy / a, \quad (3)$$

где  $Sy$  — стандартная ошибка;

$a$  — наклон соответствующей калибровочной кривой.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе предварительных исследований было установлено, что спектры поглощения в ультра-

and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide 0.0005–0.005%. A calibration graph was constructed on the basis of the data of the measured optical densities of the solutions in relation to their nominal concentration. The linearity was estimated by the value of the correlation coefficient ( $r \geq 0.990$ ) calculated by the least squares method.

The correctness of the quantitative determination of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide was evaluated on the basis of linearity and precision compliance with the established acceptance criteria and statistically insignificant difference of the absolute term of the linear dependence equation from zero [4, 5]

$$a < t(95\%, n - 2) \cdot S_a, \quad (1)$$

where  $a$  — absolute term of the linear equation;

$t$  — Student's coefficient;

95% — confidence coefficient;

$n$  — number of measurements;

$S_a$  — linear standard deviation.

The detection limit (DL) and the limit of quantitative determination (LQD) were calculated for both studied substances based on the data of the corresponding calibration graph, according to equations (2) and (3):

$$\text{DL} = 3.3Sy / a; \quad (2)$$

$$\text{LQD} = 10Sy / a, \quad (3)$$

where  $Sy$  — standard error;

$a$  — slope of the corresponding calibration curve.

## RESULTS AND DISCUSSION

During preliminary studies, it was found that the absorption spectra in the ultraviolet range (230–300 nm) of solutions of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide in various solvents (95% ethyl alcohol, aqueous-alcoholic solution of HCl, aqueous-alcoholic solution of NaOH) have the same structure and stable minimum and maximum absorption ( $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$  nm,  $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$  nm). Thus, for further studies of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide, 95% ethyl alcohol was used as a solvent. The absorption spectra in the ultraviolet range of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide in various solvents (95% ethyl alcohol, aqueous-al-

фиолетовом диапазоне (230–300 нм) растворов бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида в различных растворителях (95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl, водно-спиртовом растворе NaOH) имеют одинаковую структуру и стабильные минимум и максимум поглощения ( $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$  нм,  $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$  нм). Таким образом, для дальнейших исследований бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида в качестве растворителя использовали 95% спирт этиловый. Спектры поглощения в ультрафиолетовом диапазоне додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида в различных растворителях (95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl и водно-спиртовом растворе NaOH) имеют различную структуру. В 95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl наблюдаются стабильные минимум и максимум поглощения ( $\lambda_{\min} = 260 \pm 2$  нм,  $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$  нм). Спектр субстанции в водно-спиртовом растворе NaOH имеет стабильный максимум поглощения ( $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$  нм). Удельный коэффициент светопоглощения  $E_{1\%/1\text{см}}$  был рассчитан для различных растворов и оказался выше для спирто-водно-щелочного раствора ( $E_{1\%/1\text{см}} = 245.16$ ), чем для раствора в 95% спирте этиловом ( $E_{1\%/1\text{см}} = 42.27$ ). Поэтому для дальнейших исследований додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида в качестве растворителя использовался водно-спиртовой раствор NaOH (0.1M NaOH : 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH — 4 : 6).

**Специфичность.** УФ-спектры 0.005% раствора бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и спирта этилового 95% (рис. 1, 2) не имеют общих максимумов и минимумов поглощения, что свидетельствует о достижении необходимой специфичности методики. Спектр бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида имеет характерный максимум при  $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$  нм и минимум при  $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$  нм. Эти данные могут использоваться при определении подлинности исследуемой субстанции бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида.

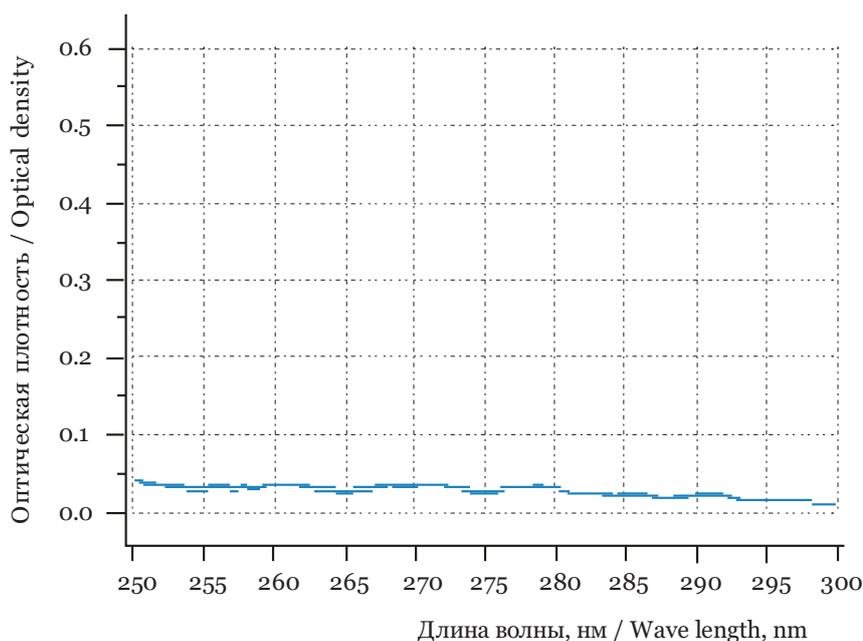
УФ-спектры 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида и водно-спиртового раствора NaOH (0.1M NaOH : 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH — 4 : 6) (рис. 3, 4) не имеют общих максимумов и минимумов поглощения, что свидетельствует о достижении необходимой специфичности методики. Спектр додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида имеет характерный максимум при  $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$  нм. Это характерное для данной субстанции смещение максимумов

coholic HCl solution and aqueous-alcoholic NaOH solution) have a different structure. In a 95% alcohol ethyl, aqueous-alcoholic HCl solution, stable minimum and maximum absorption are observed ( $\lambda_{\min} = 260 \pm 2$  нм,  $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$  нм). The spectrum of the substance in an aqueous-alcoholic NaOH solution has a stable absorption maximum ( $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$  нм). The specific light absorption coefficient  $E_{1\%/1\text{см}}$  was calculated for various solutions and turned out to be higher for an alcohol-aqueous-alkaline solution ( $E_{1\%/1\text{см}} = 245.16$ ) than for a solution in 95% ethyl alcohol ( $E_{1\%/1\text{см}} = 42.27$ ). Therefore, for further studies of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, a aqueous-alcohol solution of NaOH (0.1 M NaOH: 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH — 4 : 6) was used as a solvent.

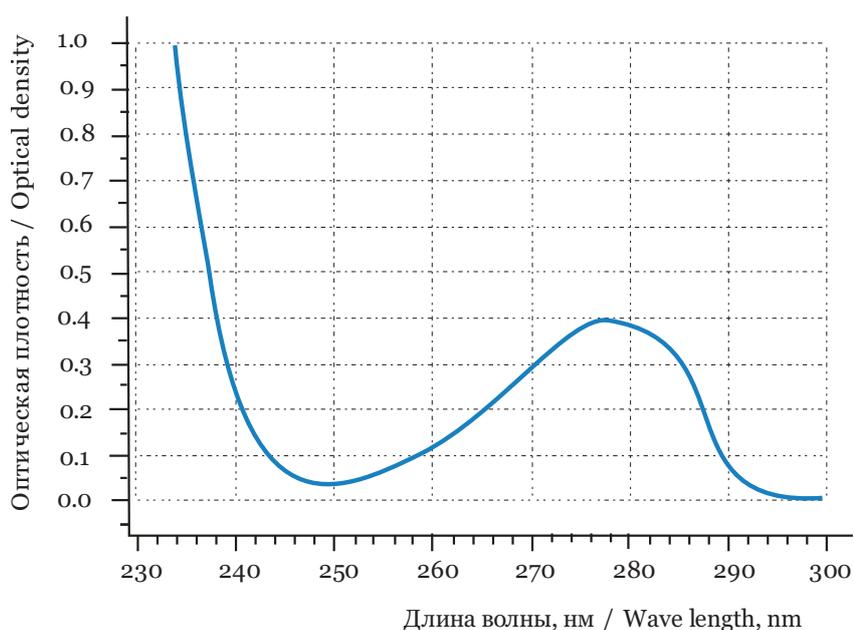
**Specificity.** UV spectra of a 0.005% solution of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl] sulfide and 95% ethyl alcohol (Fig. 1, 2) do not have common absorption maxima and minima which indicates the achievement of the necessary specificity of the technique. The spectrum of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide has a characteristic maximum at  $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$  нм and a minimum at  $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$  нм. These data can be used to determine the authenticity of the test substance bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide.

UV spectra of a 0.002% solution of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide and a aqueous-alcohol solution of NaOH (0.1 M NaOH : 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH — 4 : 6) (Fig. 3, 4) have no common maximum and minimum absorption, which indicates the achievement of the necessary specificity of the technique. The spectrum of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxyphenyl)sulfide has a characteristic maximum at  $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$  нм. This shift of the absorption maximum, characteristic of this substance, as compared with the solution in 95% ethyl alcohol ( $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$  нм) can be used to determine the authenticity of the studied substance dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

**Precision.** Evaluation of the repeatability / convergence of the results of 10 repetitions of the optical density measurement of a 0.005% solution of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide ( $\lambda_{\max} = 277$  нм) and a 0.002% solution of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide ( $\lambda_{\max} = 259$  нм) showed good reproducibility with RSD = 2 and 1.4% respectively, which meets the established criterion of acceptability [1, 6, 7]. The results of statistical



**Рис. 1.** УФ-спектр растворителя — спирта этилового 95%  
**Fig. 1.** UV spectrum of solvent — ethyl alcohol 95%



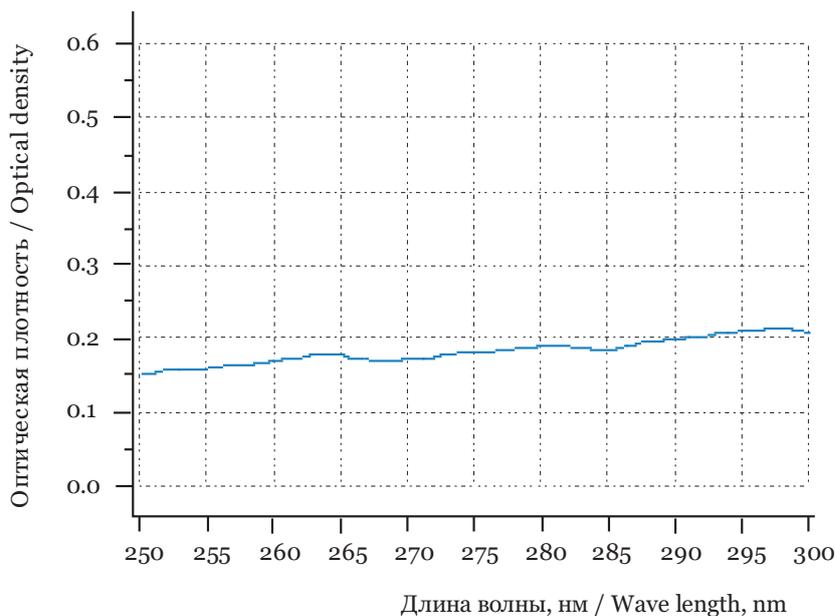
**Рис. 2.** УФ-спектр раствора бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида  
**Fig. 2.** UV spectrum of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution

ма поглощения по сравнению с раствором в 95% спирте этиловом ( $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$  нм) может использоваться при определении подлинности исследуемой субстанции додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида.

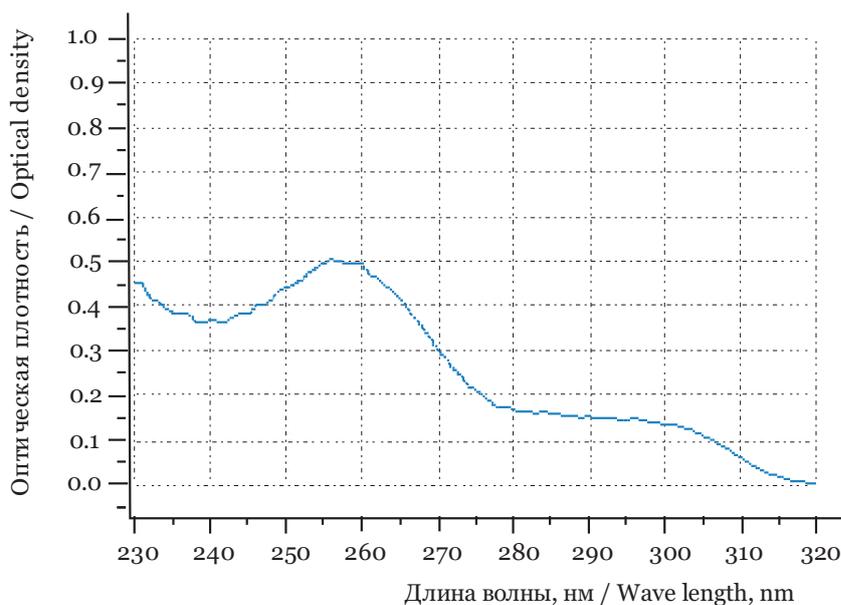
**Прецизионность.** Оценка повторяемости/сходимости результатов 10 повторений измерения оптической плотности 0.005% раствора бис-

processing obtained during the assessment of precision data are presented in Table 1.

Also, to assess the precision of the technique, control charts of individual values and moving ranges of optical densities for each of the solutions were constructed (Fig. 5, 6). None of the values on the charts goes beyond the upper / lower control boundaries, which indicates the absence of influ-



**Рис. 3.** УФ-спектр смеси растворителей 0.1M NaOH : 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH  
**Fig. 3.** UV spectrum of solvent mixture 0.1M NaOH : 95% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH



**Рис. 4.** УФ-спектр раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида  
**Fig. 4.** UV spectrum of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution

[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида ( $\lambda_{\max} = 277$  нм) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида ( $\lambda_{\max} = 259$  нм) продемонстрировала хорошую воспроизводимость с RSD = 2 и 1.4 % соответственно, что удовлетворяет установленному критерию приемлемости [1, 6, 7]. Результаты статистической обработки полученных в ходе оценки прецизионности данных представлены в табл. 1.

ence on the analysis results of nonrandom (special) factors and testifies the statistical controllability of the analysis processes [2].

*Linearity.* Calibration graphs for the substances bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are shown in Fig. 7, 8. The correlation coefficient ( $r$ ) between the 10 measured optical densities and the corresponding nominal concen-

**Таблица 1.** Повторяемость/сходимость результатов измерения оптической плотности исследуемых субстанций  
**Table 1.** Repeatability / convergence of the measurement results of the optical density in the investigated substances

Субстанция, концентрация % Substance, concentration %	Оптическая плотность Optical density	RSD, %
Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид, 0.005 % Bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide, 0.005%	0.434	2.0
	0.4866	
	0.4476	
	0.5021	
	0.4553	
	0.4719	
	0.4593	
	0.4766	
	0.4882	
	0.4752	
Додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид, 0.002 % Dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, 0.002%	0.4097	1.4
	0.3961	
	0.4611	
	0.3883	
	0.3664	
	0.3888	
	0.3851	
	0.3894	
	0.377	
	0.3977	

Примечание. RSD — относительное стандартное отклонение.  
 Note. RSD — relative standard deviation.

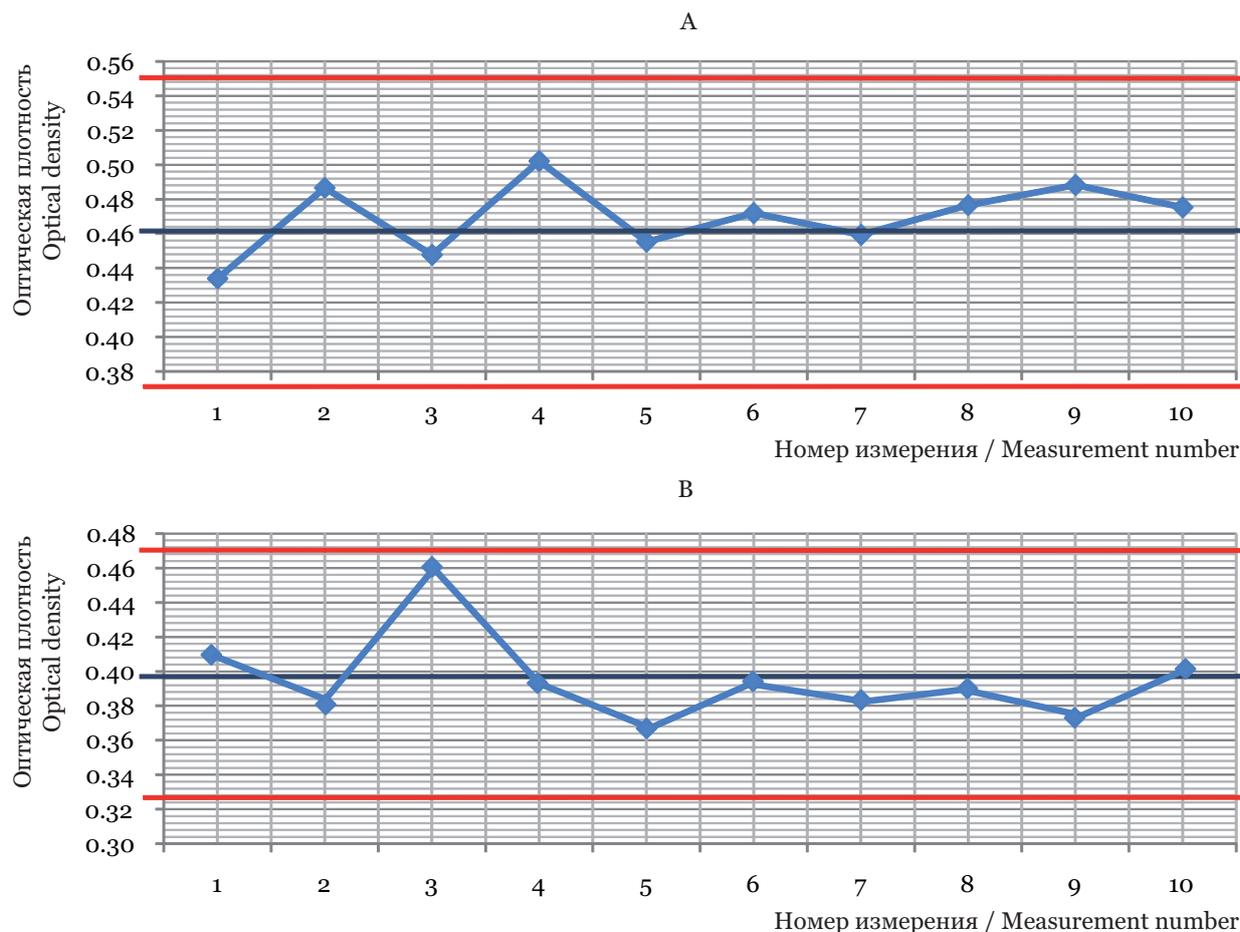
Также для оценки прецизионности методики были построены контрольные карты индивидуальных значений и скользящих размахов оптических плотностей для каждого из растворов (рис. 5, 6). Ни одно из значений на картах не выходит за верхние/нижние контрольные границы, что говорит об отсутствии влияния на результаты анализа неслучайных (специальных) факторов и свидетельствует о статистической управляемости процессов анализа [2].

**Линейность.** Калибровочные графики для субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида представлены на рис. 7, 8. Коэффициент корреляции ( $r$ ) между 10 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора исследуемой субстанции составил 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида, что соответствует установленному крите-

риериям тестового раствора исследуемой субстанции 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида, что соответствует установленному критерию приемлемости [1, 8]. Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе исследования линейности, приведены в Таблице 2.

**Правильность** процедур для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида подтверждена соответствием параметров линейности и точности, а также статистически незначительной разницей абсолютного члена уравнения линейной зависимости от нуля для каждого из методов [9, 10].

**Предел обнаружения и предел количественного определения** рассчитаны на основе данных калибровочных графиков: для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида — 0.0000314 и 0.00103%, для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида — 0.0000375 и 0.00108% соответственно (см. Таблицу 2).



**Рис. 5.** Контрольная карта индивидуальных значений оптической плотности 0.005% раствора бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида (А) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида (В) (— верхняя и нижняя контрольные границы; — средняя линия; ◆ отдельные значения)

**Fig. 5.** Control chart of individual values of optical density of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution, 0.005% (A) and of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution, 0.002% (B) (— upper and lower control boundaries; — middle line; ◆ separate values)

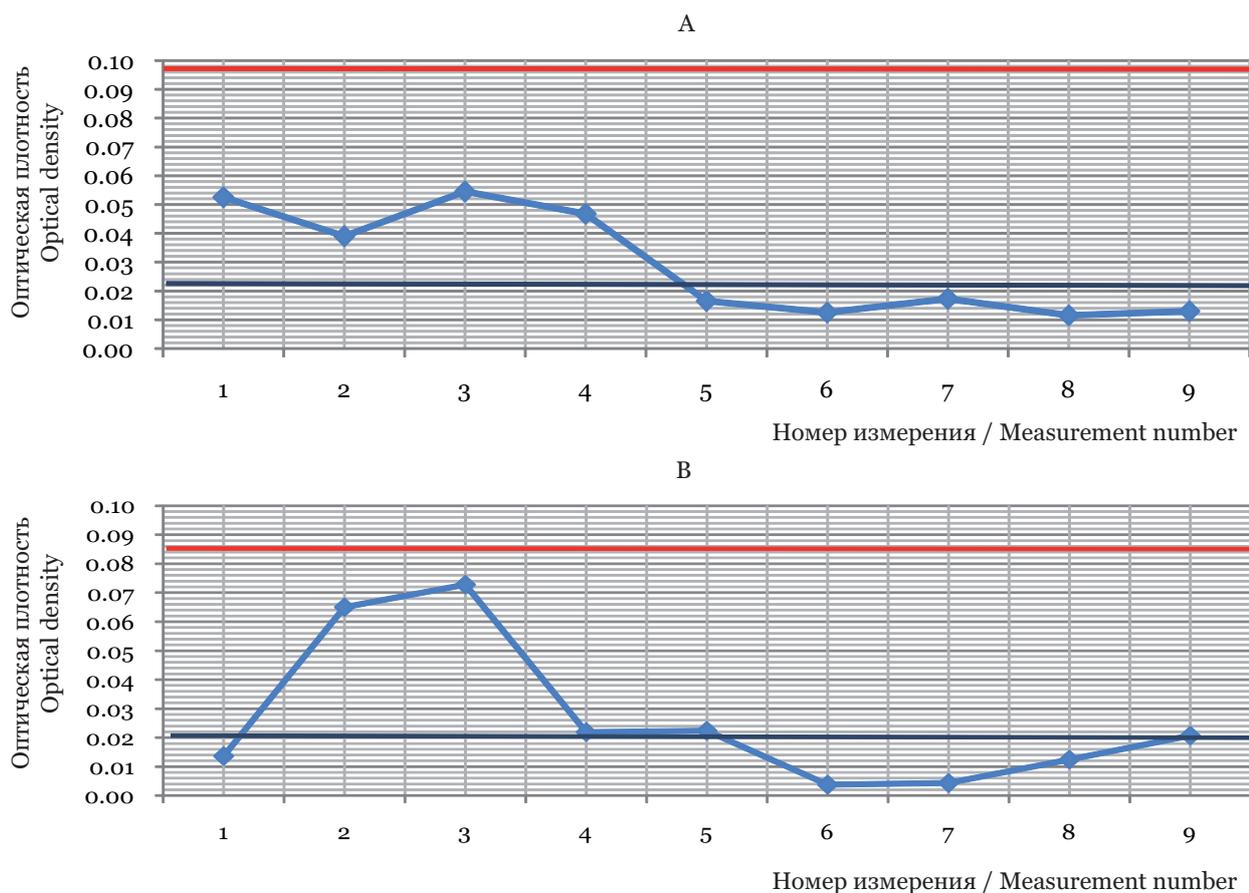
рию приемлемости [1, 8]. Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе исследования линейности, приведены в табл. 2.

*Правильность* методик для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутилгидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида подтверждается соответствием параметров линейности и прецизионности, а также статистически незначимым отличием свободного члена уравнения линейной зависимости от нуля для каждой из методик [9, 10].

*Предел обнаружения и предел количественного определения*, рассчитанные на основе данных калибровочных графиков, составили 0.0000314 и 0.00103 % для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.0000375 и 0.00108 % для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно (см. табл. 2).

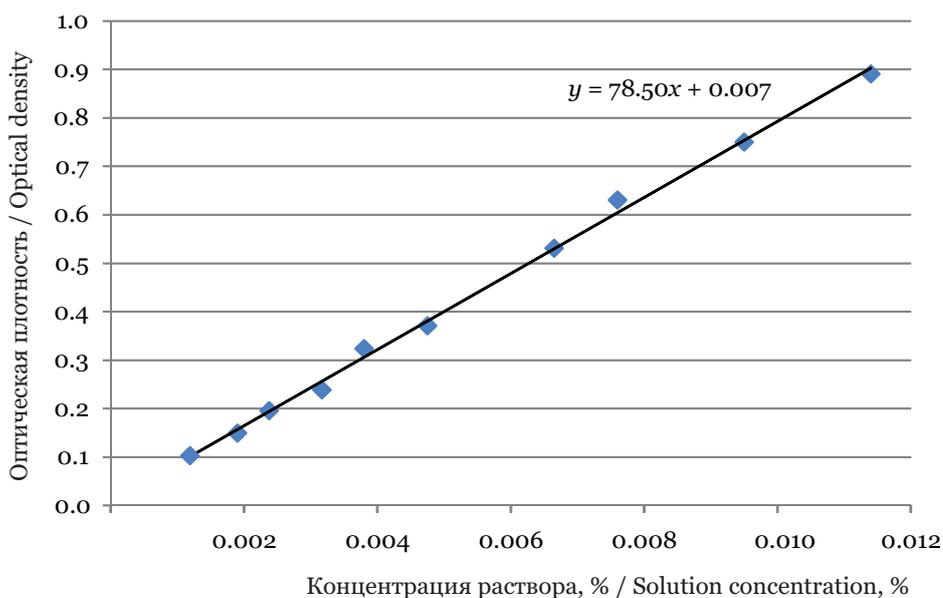
## CONCLUSION

As a result of the studies, it was established that UV spectrophotometry can be used for confirmation of the authenticity and for quantitative determination of the substances bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The data obtained can also be used to develop methods for the quantitative determination or determination of impurities by high performance liquid chromatography using a UV spectrophotometric detector [11]. However, to fully complete the development of spectrophotometric methods for the quantitative determination of bis [3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, it is also necessary to evaluate internal and inter-laboratory reproducibility, accuracy and stability of the methodology, which will be the object of further research.



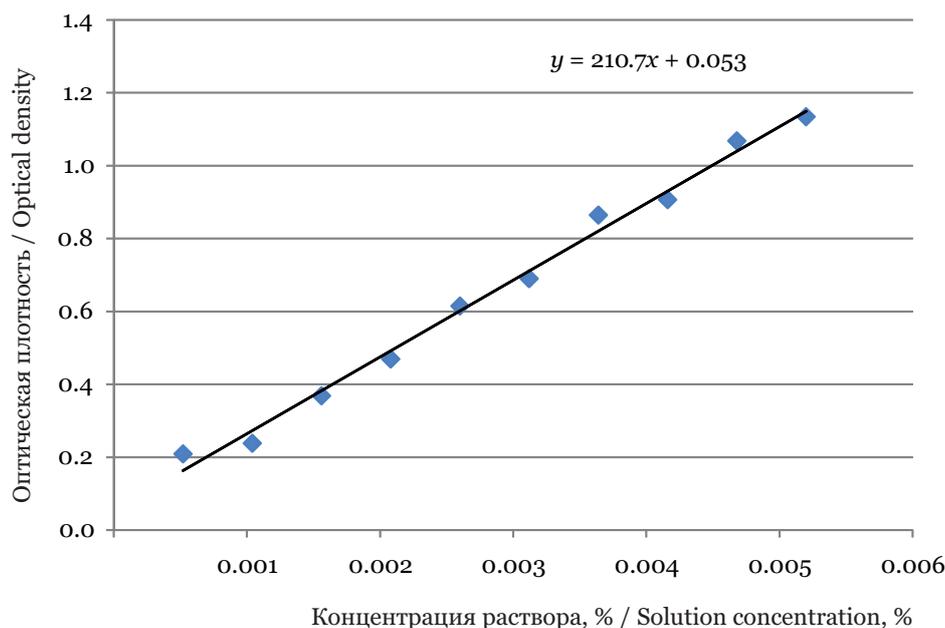
**Рис. 6.** Контрольная карта скользящих размахов оптической плотности 0.005% раствора бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида (А) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида (В) ( — верхняя контрольная граница; — средняя линия; ♦ отдельные значения)

**Fig. 6.** Control chart of the moving ranges of optical density of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution, 0.005% (A) and of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution, 0.002% (B) ( — upper control boundary; — middle line; ♦ individual values of the moving ranges of the optical density of the test solution)



**Рис. 7.** Линейность бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида

**Fig. 7.** Linearity of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide



**Рис. 8.** Линейность додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида  
**Fig. 8.** Linearity of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide

**Таблица 2.** Результаты обработки данных, полученных в ходе исследования линейности  
**Table 2.** The results of processing the data obtained in the study of linearity

Субстанция Substance	Концентрация, % Concentration, %	Оптическая плотность Optical density	$r$	$b$	$a$	ПО, % DL, %	ПКО, % LQD, %
Бис-[3'(3,5-ди- трет-бутил-4- гидроксифенил) пропил]сульфид Bis-[3'(3,5-di- tret-butyl-4- hydroxyphenyl) propyl]sulfide	0.001188	0.1029	0.999	78.5	0.0075	0.0000314	0.00103
	0.0019	0.1494					
	0.002375	0.1957					
	0.003166	0.2388					
	0.0038	0.3237					
	0.00475	0.371					
	0.00665	0.5309					
	0.0076	0.6304					
	0.0095	0.7498					
	0.0114	0.8904					
Додецил(3,5- диметил-4- гидроксибензил) сульфид Dodecyl(3,5- dimethyl-4- hydroxybenzyl) sulfide	0.00052	0.209	0.996	210.76	0.0534	0.0000375	0.00108
	0.00104	0.2381					
	0.00156	0.3683					
	0.00208	0.4692					
	0.0026	0.6147					
	0.00312	0.6898					
	0.00364	0.8642					
	0.00416	0.9064					
0.00468	1.0678						
0.0052	1.134						

Примечание.  $r$  – коэффициент корреляции;  $b$  – угловой коэффициент уравнения линейной зависимости;  $a$  – свободный член уравнения линейной зависимости; ПО – предел обнаружения; ПКО – предел количественного определения.

Note.  $r$  – correlation coefficient;  $b$  – angular coefficient of the equation of linear dependence;  $a$  – absolute term of the equation of linear dependence; DL – detection limit; LQD – limit of quantitative determination.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований была установлена возможность использования УФ-спектрофотометрии для подтверждения подлинности и количественного определения субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида. Полученные данные также могут быть использованы при разработке методики количественного определения или определения примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при использовании УФ-спектрофотометрического детектора [11]. Однако для полного завершения разработки спектрофотометрических методик

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

для количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида необходимо также оценить внутри- и межлабораторную воспроизводимость, точность и устойчивость методики, что будет являться объектом дальнейших исследований.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. 2018. URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html). Дата обращения: 03.10.2019.
2. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта. М.: Стандартинформ, 2019. 42 с.
3. Кулешова С.И. Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2017. Т. 7, № 2. С. 77–80.
4. Эпштейн Н.А. Валидация аналитических методик: графические и расчетные характеристики для оценки линейности методики на практике // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. Т. 8, № 2. С. 122–130.
5. Rao K.P., Rao M.C. Spectrophotometric methods in the analysis of drugs in pure and dosage forms // Int. J. Chem. Sci. 2016. Vol. 14 (4). P. 2389–2396.
6. The Japanese Pharmacopoeia: 17th ed. 2016. URL: [https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17\\_REV\\_1.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17_REV_1.pdf). Дата обращения: 03.10.2019.
7. European Pharmacopoeia Online 9.0. 2016. URL: <http://online6.edqm.eu/ep900/>. Дата обращения: 03.10.2019.
8. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for industry / Food and Drug Administration. 2015. 15 p.
9. Pharmaceutical Statistics: Proc. of the 39th annual Midwest Biopharmaceutical Statistics Workshop. Muncie, Indiana, USA, 2016. 341 p.
10. De Muth J.E. Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications: 3rd ed. Chapman and Hall/CRC Press, 2014. 847 p.
11. Parr M.K., Schmidt A.H. Life cycle management of analytical methods // J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 2018. Vol. 147. P. 506–517.

## REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14<sup>th</sup> ed. (2018). Retrieved Oct 10, 2019 from [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html). In Russ.
2. GOST R ISO 7870-2-2015 Statistical Methods. Control Charts. Part 2. Control Charts of Shukhart (2019). Moscow, 42 p. In Russ.
3. Kuleshova S.I. (2017). Transfer of methods, and parameters of validation / verification. *Bulletin of the Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products*, 7 (2), 77–80.
4. Epshtein N.A. (2019). Validation of analytical procedures: graphic and calculated criteria for assessment of methods linearity in practice. *Development and Registration of Medicines*, 8 (2), 122–130.
5. Rao K.P., Rao M.C. (2016). Spectrophotometric methods in the analysis of drugs in pure and dosage forms. *Int. J. Chem. Sci.*, 14 (4), 2389–2396.
6. The Japanese Pharmacopoeia: 17<sup>th</sup> ed. (2016). Retrieved Oct 3, 2019 from [https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17\\_REV\\_1.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17_REV_1.pdf).
7. *European Pharmacopoeia Online 9.0* (2016). Retrieved Oct 3, 2019 from: <http://online6.edqm.eu/ep900/>.
8. *Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for industry / Food and Drug Administration* (2015). 15 p.
9. *Pharmaceutical Statistics: Proc. of the 39<sup>th</sup> annual Midwest Biopharmaceutical Statistics Workshop* (2016). Muncie, Indiana, USA, 341 p.
10. De Muth J.E. (2014). *Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications*. 3<sup>rd</sup> ed. Chapman and Hall/CRC Press, 847 p.
11. Parr M.K., Schmidt A.H. (2018). Life cycle management of analytical methods. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, 147, 506–517.

## ABOUT THE AUTHORS

**Shinko Tatyana Gennadyevna** — Graduate Student, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Шинко Татьяна Геннадьевна** — аспирант кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Ново-

сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Терентьева Светлана Владимировна** — д-р фармацевт. наук, профессор кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Ивановская Елена Алексеевна** — д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А. Уф-спектрофотометрическое определение бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокси-фенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 4–16.

**Terentyeva Svetlana Vladimirovna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

**Ivanovskaya Elena Alekseyevna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

**Citation example:** Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A. (2020). UV spectrophotometric determination of bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 4–16.

## Эффективность ферментотерапии в комплексном лечении больных хроническим абактериальным простатитом (категории IIIa)

Кульчавеня Е.В.<sup>1,2</sup>, Баранчукова А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

## The effectiveness of enzyme therapy in the comprehensive treatment of patients with chronic abacterial prostatitis (category IIIa)

Kulchavenya E.V.<sup>1,2</sup>, Baranchukova A.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Гиперпродукция фиброзной ткани как конечный этап хронического воспаления простаты усугубляет нарушение уродинамики и замедляет выздоровление.

**Цель.** Определить возможность повышения эффективности лечения больных хроническим абактериальным простатитом за счет антисклеротической ферментотерапии; доказать ее позитивное влияние на уродинамику и микроциркуляцию в простате.

**Материалы и методы.** В открытое, проспективное, рандомизированное, сравнительное исследование включены 60 больных хроническим абактериальным простатитом категории IIIa. Участники были разделены на две группы: основную (ОГ, 31 пациент) и группу сравнения (ГС, 29 пациентов). Пациенты ОГ получали базовую терапию с включением препарата лонгидаза в виде ректальных суппозиторий по 3000 МЕ действующего вещества трижды в неделю, 20 суппозиторий на курс. Пациенты ГС получали идентичную базовую терапию в сочетании с ректальными суппозиториями, содержащими 500 мг метилурацила — также 3 раза в неделю, всего 20 суппозиторий на курс.

Эффективность лечения оценивали по динамике показателей мочеиспускания и микроциркуляции, по уменьшению баллов по шкале симптомов National Institutes of Health — Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) и по снижению числа лейкоцитов в секрете простаты. Отличный результат подразумевал снижение суммы баллов по шкале NIH-CPSI до 14 и ниже, числа лейкоцитов в секрете простаты — до 10 в поле зрения и менее, улучшение показателей уродинамики и микроциркуляции на 40 % и более от исходного.

**Результаты.** В ОГ отличный результат был достигнут у 21 больного (67.7 %), в ГС — у 14 пациентов (48.3 %). Хороший результат отмечен у 9 пациентов (29.1 %) ОГ и у 11 (37.9 %) в ГС. Среди пациентов, получавших лонгидазу, только в одном случае (3.2 %) не было эффекта, а в ГС таковых было в четыре раза больше (4 пациента; 13.8 %).

**Выводы.** Антисклеротическая ферментотерапия препаратом лонгидаза в виде ректальных суппозиторий способствовала достоверному уменьшению выраженности симптоматики простатита, улучшению параметров уродинамики и микроциркуляции простаты.

**Ключевые слова:** простатит, лечение, лонгидаза, ферментотерапия, уродинамика, микроциркуляция в простате.

### ABSTRACT

**Introduction.** The fibrous tissue hyperproduction as the final stage of chronic inflammation of the prostate exacerbates the disturbance of urodynamics and slows recovery.

Поступила 23.10.2019  
Принята 29.10.2019

\* Автор, ответственный за переписку  
Кульчавеня Екатерина Валерьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: urotub@yandex.ru

Received 23.10.2019  
Accepted 29.10.2019

\*Corresponding author  
Kulchavenya Ekaterina Valeryeva: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: urotub@yandex.ru

**Aim.** To determine the possibility of increasing the effectiveness of treatment of patients with chronic abacterial prostatitis due to antisclerotic enzyme therapy; to prove its positive effect on urodynamics and microcirculation in the prostate.

**Materials and methods.** An open, prospective, randomized, comparative study included 60 patients with category IIIa chronic abacterial prostatitis. The participants were divided into two groups: the main group (MG, 31 patients) and the comparison group (CG, 29 patients). MG patients received the baseline therapy with the inclusion of Longidaza in the form of rectal suppositories, 3000 IU of the active substance three times a week, 20 suppositories per course. CG patients received identical baseline therapy in combination with rectal suppositories containing 500 mg of methyluracil — also 3 times a week, a total of 20 suppositories per course.

The effectiveness of treatment was evaluated by the dynamics of urination and microcirculation parameters, by a decrease in scores on the National Institutes of Health — Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) scale and by a decrease in the number of white blood cells in the prostatic secretion. An excellent result implied a reduction in the total score on the NIH-CPSI scale to 14 or lower, the number of leucocytes in the prostate secretion — to 10 in the field of view or less, and an improvement in urodynamics and microcirculation by 40% or more from that of initial.

**Results.** In MG an excellent result was achieved in 21 patients (67.7%), in CG — in 14 patients (48.3%). A good result was observed in 9 patients (29.1%) of the MG and in 11 (37.9%) of the CG. Among patients receiving Longidaza there was no effect only in one case (3.2%), and four times as many in the CG (4 patients; 13.8%).

**Conclusions.** Antisclerotic enzyme therapy with Longidaza in the form of rectal suppositories contributed to a significant decrease in the intensity of symptoms of prostatitis, an improvement in urodynamic parameters and prostate microcirculation.

**Keywords:** prostatitis, treatment, Longidaza, enzyme therapy, urodynamics, microcirculation in the prostate.

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническое воспаление простаты часто обнаруживают случайно при патоморфологическом исследовании операционного материала или биоптатов, когда хирургическое вмешательство было выполнено по поводу невоспалительного заболевания (доброкачественная гиперплазия простаты, злокачественные новообразования). Доказано, что интенсивность воспаления коррелирует со степенью выраженности симптомов нижних мочевыводящих путей [1–3]. Единодушия по этому вопросу нет, но преобладает точка зрения, что основной причиной является потеря эластичности тканей вследствие склерозирования как конечного этапа воспалительного процесса [4–5]. Патофизиология воспалительного процесса в простате типична: альтеративную фазу повреждения клеток сменяет экссудативная фаза сосудистой реакции на повреждение (выход жидкости и клеток крови из сосудов в ткани), затем наступает пролиферативная фаза заживления и репарации. Завершение продуктивной фазы воспаления сопровождается формированием очага фиброза/склероза [6], т. е., если воспаление не разрешилось в острую фазу, — включаются механизмы патологического заживления через избыточную продукцию фиброза [7].

В формировании фиброза большую роль играет коллаген — основной представитель группы внеклеточных протеинов. Большинство субтипов коллагена формируют фибриллы [8], которые участвуют в формировании «тканевого скелета», ответственного за прочность и растяжимость тканей, обеспечивают клеточную мигра-

## INTRODUCTION

Chronic inflammation of the prostate is often an incidental finding during a pathomorphological study of surgical material or biopsy specimens when surgical intervention was performed for a non-inflammatory disease (benign prostatic hyperplasia, malignant neoplasms). It has been proven that the intensity of inflammation correlates with the severity of symptoms of the lower urinary tract [1–3]. There is no unanimity on this issue, but the prevailing point of view states that the main reason is the loss of tissue elasticity due to sclerosis as the final stage of the inflammatory process [4–5]. The pathophysiology of the inflammatory process in prostate gland is typical: the alterative phase, characterized by cell damage, is replaced by the exudative phase with a vascular reaction to the damage (the exit of fluid and blood cells from the vessels into the tissue), then the proliferative phase of healing and repair begins. The completion of the phase of productive inflammation is accompanied by the formation of a focus of fibrosis / sclerosis [6], that is, if the inflammation is not resolved in the acute phase, the mechanisms of pathological healing through excessive production of fibrosis are activated [7].

In the formation of fibrosis, collagen plays an important role — it is the main representative of the group of extracellular proteins. Most of the collagen subtypes form fibrillae [8], which are involved in the creation of “tissue skeleton”, which is responsible for the strength and distensibility of tissues, provide cell migration and adhesion, tissue repair

цию и адгезию, восстановление тканей после повреждения [9–11]. Существуют два сбалансированных разнонаправленных процесса: синтез коллагена (необходимый для заживления очага воспаления) и его деградация. При нарушении этого баланса происходит избыточное образование фиброзной ткани, нарушающее функцию пострадавшего органа [12–15]. Так, формирование посттуберкулезной стриктуры мочеточника может привести к гибели ипсилатеральной почки, даже в случае ее излечения от туберкулеза [16].

Хроническое воспаление простаты может завершаться/осложняться фиброзом периуретральных тканей, что и является основной причиной нарушения мочеиспускания у больных хроническим простатитом [17, 18]. Организм стремится локализовать очаг воспаления, окружив его фиброзной капсулой. Избыточное образование коллагена, вызванное острым воспалительным процессом в простате, в случае его разрешения на начальных стадиях воспаления может быть обратимым [1]. Фиброз, сопровождающий хроническое воспаление простаты, может также распространяться на *corpus cavernosum*, что доказано экспериментально [19]. Подобный феномен отчасти объясняет эректильную дисфункцию у больных хроническим простатитом.

При ретроспективном анализе историй болезни 2316 мужчин, прооперированных по поводу доброкачественной гиперплазии и рака простаты, установлена положительная корреляция между степенью фиброза и злокачественным перерождением простаты. Вместе с тем вероятность обнаружения простатической интраэпителиальной неоплазии 2-й степени была выше при преобладании воспалительных изменений [20].

Обнаружили, что накопление коллагена при хроническом бактериальном простатите происходило как путем усиления синтеза *de novo*, так и за счет экспрессии генов, связанных с ремоделированием коллагена, продуцированного в хронической фазе воспаления [17].

Патоморфологическое исследование биоптатов простаты рабочих химического производства, страдающих хроническим простатитом, установило прогрессирующий фиброз стромы с явлениями перигландулярного и периваскулярного склероза [21]. Подчеркивают, что фиброз предстательной железы влияет на развитие расстройств мочеиспускания/симптомов нижних мочевых путей и результаты оперативных вмешательств. Однако данные экспериментальных исследований свидетельствуют о потенциальной возможности регресса фиброза при устранении

after damage [9–11]. There are two balanced oppositely directed processes: collagen synthesis (necessary for the healing of the focus of inflammation) and its degradation. A disturbance in this balance leads to the excessive formation of fibrous tissue, and dysfunction of the affected organ [12–15]. Thus, the formation of post-tuberculous ureter stricture can lead to the loss of the ipsilateral kidney, even if it is cured of tuberculosis [16].

Chronic inflammation of the prostate can be culminated in / complicated by fibrosis of periurethral tissues, which is the main cause of urinary disorders in patients with chronic prostatitis [17, 18]. The body seeks to localize the focus of inflammation, surrounding it with a fibrous capsule. The excess formation of collagen produced by the acute inflammatory process in the prostate, if resolved at the initial stages of inflammation, may be reversible [1]. Fibrosis accompanying chronic inflammation of the prostate can also spread to *corpus cavernosum*, which has been experimentally proven [19]. A similar phenomenon partly explains erectile dysfunction in patients with chronic prostatitis.

A retrospective analysis of case reports of 2316 men operated on for benign hyperplasia and prostate cancer showed a positive correlation between the degree of fibrosis and the malignant degeneration of the prostate. However, the probability of detecting prostatic intraepithelial neoplasia of the 2<sup>nd</sup> degree was higher with the prevalence of inflammatory changes [20].

It was found that the accumulation of collagen in chronic bacterial prostatitis occurred both by the enhancement of its synthesis *de novo* and due to the expression of genes associated with remodeling of collagen produced in the chronic phase of inflammation [17].

A pathomorphological study of prostate biopsy specimens of chemical production workers suffering from chronic prostatitis revealed progressive stromal fibrosis with periglandular and perivascular sclerosis [21]. It is emphasized that prostate fibrosis has an influence upon the development of urinary disorders / lower urinary tract symptoms and the results of surgical interventions. However, data from experimental studies indicate the potential for resolution of fibrosis provided that the cause of the disease is eliminated and the enzymatic effect on this process of drugs that promote collagen degradation is applied [22].

Thus, it was proved (mainly by experimental studies) that if acute inflammation of the prostate

причины заболевания и ферментативном воздействии на этот процесс с помощью препаратов, способствующих деградации коллагена [22].

Таким образом, доказано (преимущественно экспериментальными работами), что если при остром воспалении предстательной железы фиброз может быть минимальным, то хроническое воспаление сопровождается развитием склеротических реакций вплоть до полного рубцевания паренхимы.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить возможность повышения эффективности лечения больных хроническим абактериальным простатитом за счет антисклеротической ферментотерапии; доказать ее позитивное влияние на уродинамику и микроциркуляцию в простате.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: открытое, проспективное, рандомизированное, сравнительное. В исследование включены 60 больных хроническим абактериальным простатитом категории IIIa. Участников разделили на 2 группы: основную (ОГ, 31 пациент) и сравнения (ГС, 29 пациентов). Пациенты ОГ получали базовую терапию с включением препарата лонгидаза (международное непатентованное наименование — бовгиалуронидаза азоксимер (bovhyaluronidasum azoximerum)) в виде ректальных суппозиториях по 3000 МЕ действующего вещества трижды в неделю, 20 суппозиториях на курс. Базовая терапия включала нестероидные противовоспалительные препараты, нейротропные вещества, ангиопротекторы, венотоники. Пациенты ГС получали идентичную базовую терапию в сочетании с ректальными суппозиториями, содержащими 500 мг метилурацила — также 3 раза в неделю, всего 20 суппозиториях на курс. Для упрощения контроля и повышения приверженности к лечению схема терапии была унифицирована. Лечение всегда начинали в понедельник; пациенты самостоятельно вводили суппозиторий в прямую кишку в понедельник, среду и пятницу в течение 7 нед; в последнюю среду курса лечения завершали и в четверг-пятницу приходили на контрольное обследование.

Критерии включения были следующие:

1. Возраст 20–50 лет.
2. Диагноз «Хронический абактериальный простатит с признаками воспаления» — категория IIIa по классификации Национальных институтов здоровья (National Institutes of Health (NIH) США) в течение не менее 2 лет.

gland can cause minimal fibrosis, then chronic inflammation is accompanied by the development of sclerotic reactions up to complete scarring of the parenchyma.

### AIM OF THE RESEARCH

To determine the possibility of increasing the treatment effectiveness in patients with chronic abacterial prostatitis due to antisclerotic enzyme therapy; to prove its positive effect on urodynamics and microcirculation in the prostate gland.

### MATERIALS AND METHODS

The study design: open, prospective, randomized, comparative. The study included 60 patients with chronic abacterial prostatitis of IIIa category. Participants were divided into 2 groups: the main group (MG, 31 patients) and the comparison group (CG, 29 patients). MG patients received baseline therapy with the inclusion of Longidaza (the international nonproprietary name is bovhyaluronidase azoximer (bovhyaluronidasum azoximerum)) in the form of rectal suppositories with 3000 IU of the active substance three times a week, 20 suppositories per course. Baseline therapy included non-steroidal anti-inflammatory drugs, neurotropic substances, angioprotectors, venotonics. CG patients received identical baseline therapy in combination with rectal suppositories containing 500 mg of methyluracil — also 3 times a week, a total number of 20 suppositories per course. To simplify control and improve adherence to treatment, the medication regimen was unified. The medication always started on Monday; patients self-administered the rectal suppository on Monday, Wednesday and Friday for 7 weeks; on the last Wednesday the course of treatment was completed, and on Thursday-Friday they came for a follow-up examination.

The inclusion criteria were as follows:

1. Age 20–50 years.
2. Diagnosis of chronic abacterial prostatitis with signs of inflammation — category IIIa according to the National Institutes of Health classification for at least 2 years.
3. Total score on the NIH scale — Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) is at least 15.
4. Presence of prostate secretion in the native preparation, obtained by means of an expelling massage of the prostate gland, of at least 15 leukocytes in the field of view by light microscopy.

3. Сумма баллов по шкале NIH — Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) не менее 15.

4. Наличие в нативном препарате секрета простаты, полученного путем изгоняющего массажа предстательной железы, не менее 15 лейкоцитов в поле зрения при световой микроскопии.

5. Отсутствие роста патогенной микрофлоры в секрете предстательной железы (ПЖ) / эякуляте.

6. Согласие на участие в исследовании.

*Критерии исключения:*

1. Возраст моложе 20 и старше 50 лет.

2. Любые онкологические заболевания.

3. Любые соматические заболевания в стадии обострения или декомпенсации.

4. ВИЧ-инфекция в любой стадии.

5. Алкоголизм и наркомания.

6. Наличие инородных тел в мочевом пузыре.

7. Бессимптомное течение заболевания или суммарное количество симптомов хронического простатита по шкале NIH-CPSI менее 15.

8. Рост патогенной микрофлоры в секрете ПЖ / эякуляте в титре более  $10^3$  КОЕ/мл.

9. Наличие инфекций, передаваемых половым путем.

10. Любые острые или обострение хронических инфекционных заболеваний.

11. Заболевания позвоночника с неврологическим дефицитом.

Все пациенты проходили стандартное обследование, включавшее определение простатоспецифического антигена (ПСА), 3-стаканную пробу мочи, пальцевое ректальное исследование (ПРИ), трансректальное ультразвуковое исследование (ТРУЗИ), лазерную доплерфлоуметрию, урофлоуметрию. Всем выполняли клиническое и бактериологическое исследование секрета предстательной железы. Также больные самостоятельно заполняли опросник NIH-CPSI, переведенный на русский язык.

Перед началом терапии всем пациентам определяли уровень локальной микроциркуляции методом лазерной доплерфлоуметрии посредством отечественного аппарата ЛАКК-01; измерение проводили на промежности в точке проекции простаты. Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) является современным методом неинвазивной оценки состояния микроциркуляции, основанным на изменении частотных характеристик лазерного луча, зондирующего ткани, при его отражении от движущихся компонентов крови, в первую очередь — эритроцитов. Компьютерная обработка полученной доплерограммы позволяет вычислить интегральный показа-

5. Lack of growth of pathogenic microflora in the secretion of the prostate gland (PG) / ejaculate.

6. Consent to participate in the study.

*The exclusion criteria:*

1. Age under 20 and over 50.

2. Any oncological diseases.

3. Any somatic diseases in the stage of exacerbation or decompensation.

4. HIV infection at any stage.

5. Alcohol and drug addiction.

6. Presence of foreign bodies in the bladder.

7. Asymptomatic course of the disease or the total number of symptoms of chronic prostatitis on the NIH-CPSI scale being less than 15.

8. Growth of pathogenic microflora in prostate secretion / ejaculate in a titer of more than  $10^3$  CFU / ml.

9. Presence of sexually transmitted infections.

10. Any acute or exacerbation of chronic infectious diseases.

11. Spinal diseases with neurological deficiency.

All patients underwent a standard examination, including the determination of prostate-specific antigen (PSA), three-glass test, digital rectal examination (DRE), transrectal ultrasound examination (TRUSE), laser doppler flowmetry, uroflowmetry. A clinical and bacteriological study of the secretion of the prostate gland was performed in all participants. Also, patients independently completed the NIH-CPSI questionnaire, translated into Russian.

Before the start of medication the level of local microcirculation was determined in all patients by laser doppler flowmetry using the domestic apparatus LAKK-01; the measurement was performed on the perineum at the projection point of the prostate. Laser doppler flowmetry (LDF) is a modern method of non-invasive assessment of the state of microcirculation, based on a change in the frequency characteristics of the laser beam probing the tissue when it is reflected from moving blood components, primarily red blood cells. Computer processing of the obtained dopplerogram allows to calculate the integral indicator (index) of microcirculation (MI), characterizing tissue perfusion. MI is directly proportional to the velocity of red blood cells, the number of functioning capillaries and hematocrit volume in microvessels; it is expressed in perfusion units (p.u.). We also took into account  $\sigma$  — standard deviation, which reflects the temporal

тель (индекс) микроциркуляции (ИМ), характеризующий перфузию тканей. ИМ прямо пропорционален скорости движения эритроцитов, количеству функционирующих капилляров и величине гематокрита в микрососудах; выражается в перфузионных единицах (п. ед.). Также учитывались  $\sigma$  — среднее квадратическое отклонение, которое отражает временную изменчивость кровотока,  $K_v$  — коэффициент вариации, характеризующий соотношение величины перфузии тканей и ее изменчивости. Всем пациентам до вмешательства выполняли урофлоуметрию, во время которой оценивали максимальную скорость мочеиспускания ( $Q_{\max}$ ) и среднюю скорость мочеиспускания ( $Q_{\text{ave}}$ ).

Контрольное обследование проводили через 7 нед (на 44–45-й день). Окончательный результат лечения определяли через месяц после введения последнего суппозитория ( $30 \pm 2$  дня). В течение этого времени пациенты не получали никакого лечения.

Результаты лечения расценивали в градации: отличные, хорошие, нет эффекта. Отличный результат подразумевал снижение суммы баллов по шкале NIH-CPSI до 14 и ниже; уменьшение числа лейкоцитов в нативном мазке секрета предстательной железы при световой микроскопии до 10 в поле зрения и менее; улучшение показателей уродинамики и микроциркуляции на 40 % и более от исходного. Хороший результат означал снижение суммы баллов по шкале NIH-CPSI на 30 % и более по сравнению с исходным, но более 15; уменьшение числа лейкоцитов в нативном мазке секрета предстательной железы при световой микроскопии на 30 % и более по сравнению с исходным, но выше 10 в поле зрения; улучшение показателей уродинамики и микроциркуляции на 20–39 % от исходного. Если по окончании проведенного курса терапии сумма баллов по шкале NIH-CPSI оставалась выше 15 и уменьшение по сравнению с исходным было менее, чем на 30 %, сохранялся лейкоцитоз секрета простаты и отсутствовало значимое улучшение показателей по результатам урофлоуметрии и ЛДФ, считали, что лечение было неэффективно.

Статистическая обработка результатов проведена на персональном компьютере с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Statistica for Windows 6.0. Определяли среднюю арифметическую ( $\bar{x}$ ), отклонение от средней арифметической ( $x - \bar{x}$ ), далее рассчитывали среднее квадратическое отклонение ( $\sigma$ ) и среднюю ошибку относительной величины ( $m$ ). Для решения вопроса

variability of blood flow,  $K_v$  — coefficient of variation, which characterizes the ratio of tissue perfusion and its variability. Prior to the intervention, all patients underwent uroflowmetry, during which the maximum urinary flow rate ( $Q_{\max}$ ) and the average urinary flow rate ( $Q_{\text{ave}}$ ) were evaluated.

Control examination was performed after 7 weeks (on the 44–45<sup>th</sup> day). The final treatment result was evaluated one month after the last suppository administration ( $30 \pm 2$  days). During this time patients received no medication.

The treatment results were regarded in gradation: excellent, good, no effect. An excellent result implied a reduction in the total score on the NIH-CPSI scale to 14 and below; a decrease in the number of leukocytes in the native smear of prostate secretion under light microscopy to 10 in the field of view or less; improvement of urodynamics and microcirculation by 40% or more from the initial. A good result meant a reduction in the total score on the NIH-CPSI scale by 30% or more compared to the initial, but more than 15; a decrease in the number of leukocytes in the native smear of prostate secretion under light microscopy by 30% or more compared to the initial, but above 10 in the field of view; improvement of urodynamics and microcirculation by 20–39% of the initial one. If at the end of the course of therapy the total score on the NIH-CPSI scale remained higher than 15 and the decrease compared to the initial was less than 30%, the leukocytosis of the prostate secretion remained and there was no significant improvement in the results of uroflowmetry and LDF, then the treatment was considered inefficient.

Statistical processing of the results was carried out on a personal computer using the programs Microsoft Excel 2007 and Statistica for Windows 6.0. The arithmetic mean ( $\bar{x}$ ), the deviation from the arithmetic mean ( $x - \bar{x}$ ) were determined, then the standard deviation ( $\sigma$ ) and the average error of the relative value ( $m$ ) were calculated. To solve the question of the randomness of the discrepancies of the observed average (relative) values, the average error of the difference of the two means was calculated. The results were presented as mean  $\pm$  error of the mean ( $M \pm m$ ). Then, by comparing the average values of two sample populations ( $M_1$  and  $M_2$ ), the Student  $t$ -test was calculated and the significance level  $p$  was determined. When assessing the reliability of the results of the first stage of the study, a non-parametric analogue of the Student  $t$ -test was

о случайности расхождений наблюдаемых средних (относительных) величин вычисляли среднюю ошибку разности двух средних. Полученные результаты представляли как среднее  $\pm$  ошибка средней ( $M \pm m$ ). Далее посредством сравнения средних значений двух выборочных совокупностей ( $M_1$  и  $M_2$ ) вычисляли  $t$ -критерий Стьюдента и определяли уровень значимости  $p$ . При оценке достоверности результатов первого этапа исследования применяли непараметрический аналог критерия Стьюдента — критерий Манна — Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучаемые группы исходно были репрезентативны, каких-либо различий по изучаемым параметрам до начала лечения не было. Ранее было установлено, что хроническое воспаление ассоциировано с фиброзом и что фиброз простаты коррелирует с ухудшением микроциркуляции и уродинамики [23], поэтому степень фиброгенеза мы оценивали по этим косвенным данным. Нарушение микроциркуляции — ключевой момент хронического воспаления; ее восстановление закономерно приводит к снижению отека тканей, улучшает отток воспалительного секрета, что опосредованно купирует воспалительные реакции. Изменение индекса микроциркуляции на фоне ферментотерапии представлено на рис 1.

По параметру  $\sigma$  (среднеквадратическое отклонение, которое отражает временную измен-

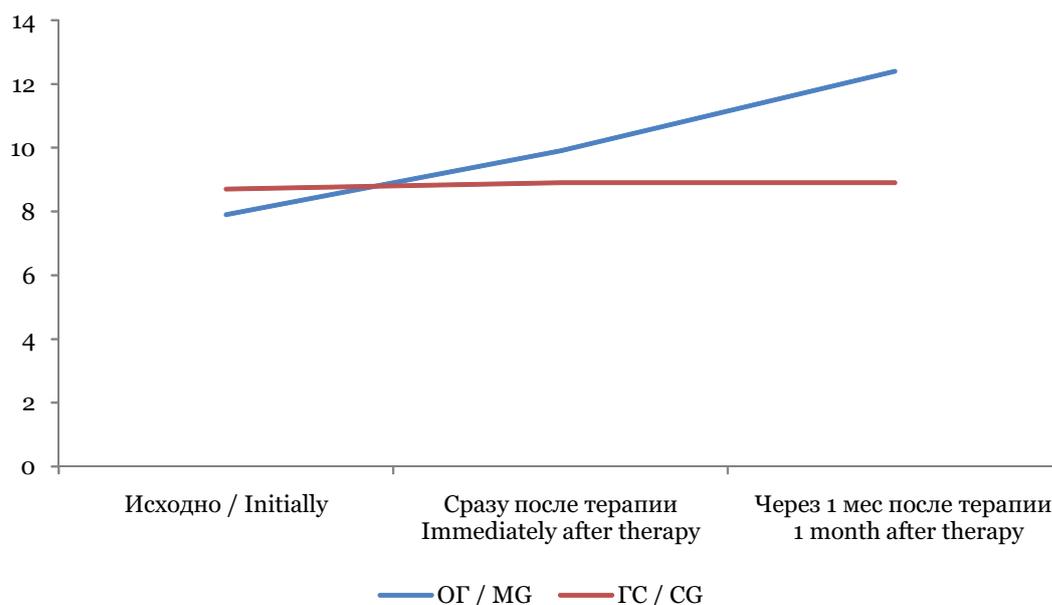
used — Mann — Whitney  $U$ -test. The differences at  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

### RESULTS AND DISCUSSION

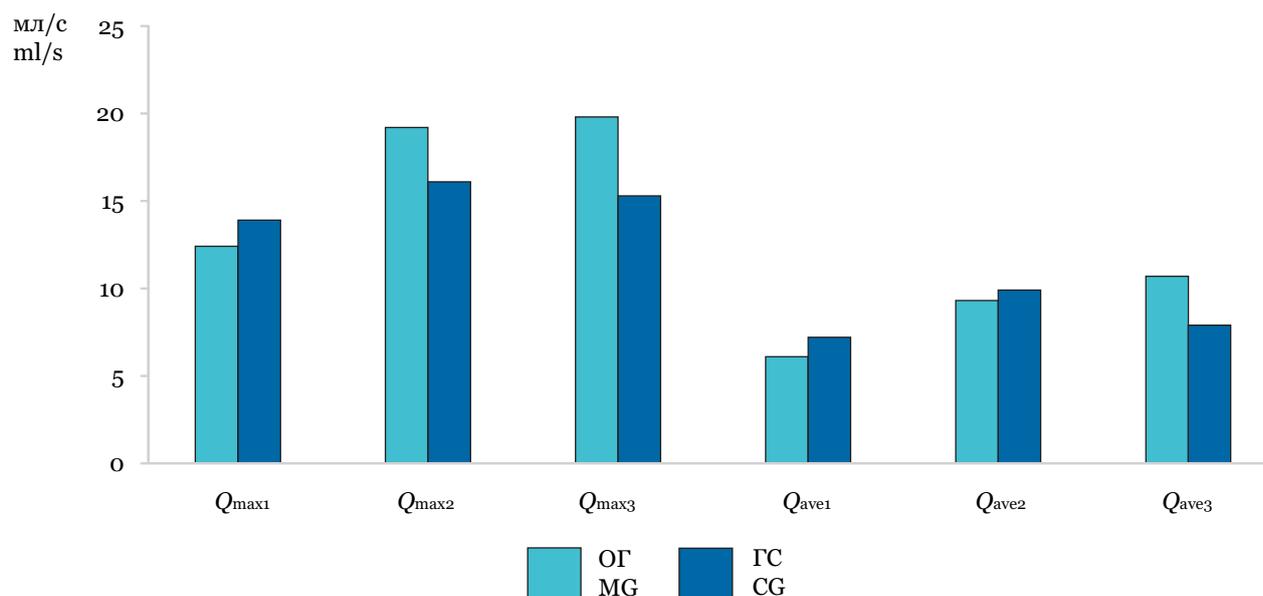
Both groups were initially representative; there were no differences in the studied parameters before treatment. It was previously established that chronic inflammation is associated with fibrosis and that prostate fibrosis correlates with worsening microcirculation and urodynamics [23]; therefore, we estimated the degree of fibrogenesis from these indirect data. Disturbance of microcirculation is a key point in chronic inflammation; its restoration naturally leads to a decrease in tissue edema, improves the outflow of inflammatory secretion, therefore indirectly stops inflammatory reactions. The change in the microcirculation index against the background of enzyme therapy is presented in Fig. 1.

According to  $\sigma$  parameter (standard deviation, which reflects the temporal variability of blood flow), statistically significant differences were also obtained both in MG (dynamics is from  $3.6 \pm 0.4$  initially to  $4.1 \pm 0.1$  at the end of therapy and  $4.8 \pm 0.5$  one month after treatment) and in CG, in which this indicator remained stable throughout the observation period ( $3.5 \pm 0.4$ ,  $3.7 \pm 0.4$ ,  $3.6 \pm 0.3$  respectively).

Thus, a statistically significant improvement in microcirculation was achieved in the main group.



**Рис. 1.** Динамика индекса микроциркуляции  
**Fig. 1.** Dynamics of the microcirculation index



**Рис. 2.** Динамика параметров урофлоуметрии ( $Q_{max1}$ ,  $Q_{ave1}$  — исходные данные;  $Q_{max2}$ ,  $Q_{ave2}$  — сразу после терапии;  $Q_{max3}$ ,  $Q_{ave3}$  — при контрольном обследовании через месяц после терапии)

**Fig. 2.** Dynamics of uroflowmetry parameters ( $Q_{max1}$ ,  $Q_{ave1}$  — initially data;  $Q_{max2}$ ,  $Q_{ave2}$  — immediately after therapy;  $Q_{max3}$ ,  $Q_{ave3}$  — during follow-up examination one month after therapy)

чивость кровотока) также были получены статистически значимые различия как в ОГ (динамика от  $3.6 \pm 0.4$  исходно до  $4.1 \pm 0.1$  по завершении терапии и  $4.8 \pm 0.5$  через месяц после лечения), так и в GC, в которой этот показатель оставался стабильным все время наблюдения ( $3.5 \pm 0.4$ ,  $3.7 \pm 0.4$ ,  $3.6 \pm 0.3$  соответственно).

Таким образом, в основной группе достигнуто статистически значимое улучшение микроциркуляции.

Быстрый регресс воспаления и улучшение микроциркуляции предотвращают избыточное образование фибробластов и положительно влияют на параметры мочеиспускания. В результате симптоматика хронического простатита исчезает, что подтверждает статистически значимое снижение баллов по шкале NIH-CPSI (рис. 2, 3).

Улучшение микроциркуляции и мочеиспускания создало предпосылки к купированию воспаления, что подтвердило статистически значимое снижение числа лейкоцитов, обнаруженных при световой микроскопии секрета простаты (таблица).

Таким образом, проведение антисклеротической ферментотерапии препаратом лонгидаза привело к достоверному снижению выраженности симптоматики простатита, увеличению максимальной скорости потока мочи и улучшению микроциркуляции простаты.

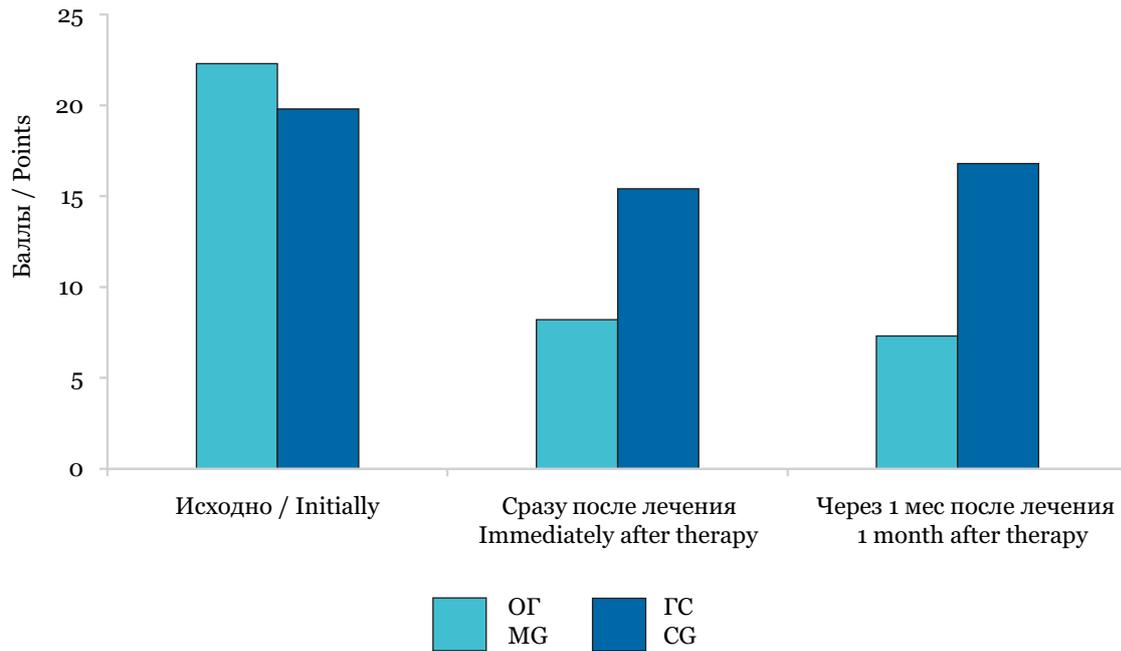
Rapid resolution of inflammation and improvement in microcirculation prevent the excessive formation of fibroblasts and affect the parameters of urination positively. As a result, the symptoms of chronic prostatitis disappear, which confirms a statistically significant decrease in scores on the NIH-CPSI scale (Fig. 2, 3).

The improvement in microcirculation and urination created prerequisites for stopping inflammation, which was confirmed by statistically significant decrease in the number of leukocytes detected by light microscopy in prostate secretion (the Table).

Thus, the implementation of antisclerotic enzyme therapy with Longidaza led to a significant decrease in the intensity of prostatitis symptoms, an increase in the maximum flow rate of urine and an improvement of prostatic microcirculation.

In general, an excellent treatment result was achieved in the main group in 21 patients (67.7%), good — in 9 patients (29.1%), only in one case (3.2%) there was no effect. In the comparison group, an excellent result was observed in 14 patients (48.3%), good — in 11 (37.9%), and in 4 patients (13.8%) the therapy was ineffective (Fig. 4).

Currently, some experience has been gained with the use of Longidaza in urology. D.Yu. Pushkar et al. [24, 25] found it advisable to prescribe Longidaza 3000IU once every five days, a total of



**Рис. 3.** Результаты оценки по шкале симптомов NIH-CPSI  
**Fig. 3.** NIH-CPSI scale symptoms results

Динамика воспаления в простате в основной группе и группе сравнения ( $n = 60$ )  
 The dynamics of prostate inflammation in the main group and the comparison group ( $n = 60$ )

Группа / Group	Лейкоциты в секрете простаты (число в поле зрения) White blood cells in the secretion of the prostate (number per field of view)
Основная / Main ( $n = 31$ ):	
исходно / initially	$37.6 \pm 4.5$
сразу после лечения / immediately after treatment	$14.2 \pm 3.9$
через 1 мес после лечения / 1 month after treatment	$12.1 \pm 2.8^*$
Сравнения / Comparison ( $n = 29$ ):	
исходно / initially	$35.9 \pm 6.3$
сразу после лечения / immediately after treatment	$17.2 \pm 2.7$
через 1 мес после лечения / 1 month after treatment	$21.4 \pm 2.1^{**}$

\*Различия достоверны между исходными и конечными данными.  
 The differences are significant between the initial and final data.

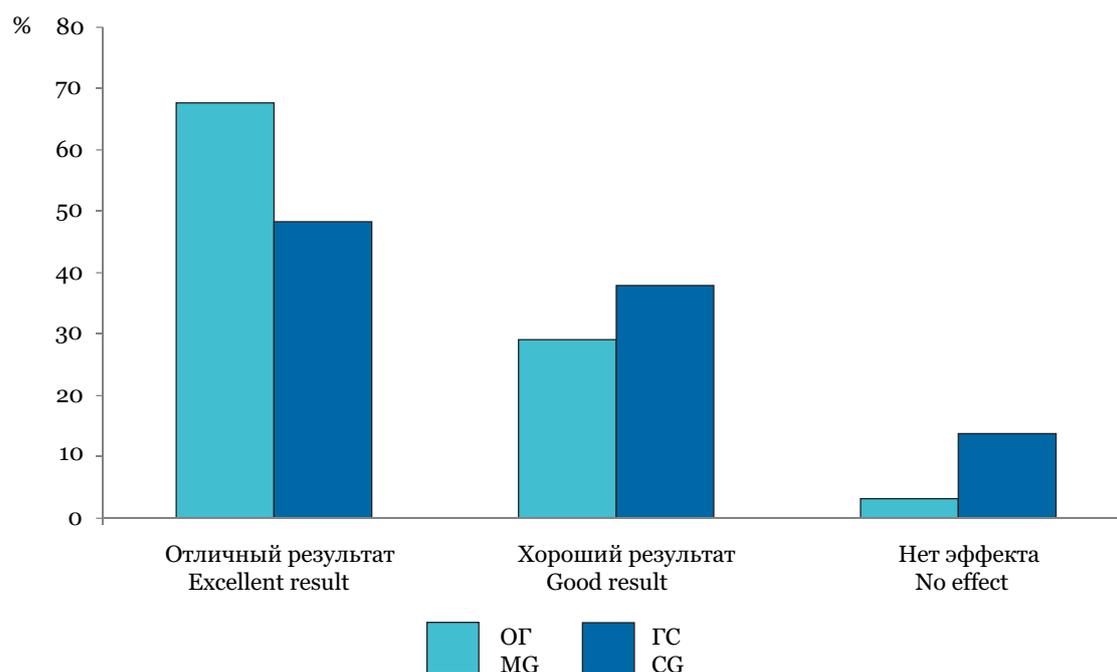
\*\*Различия достоверны между группами.  
 The differences are significant between groups.

В целом отличный результат лечения был достигнут в основной группе у 21 пациента (67.7 %), хороший — у 9 пациентов (29.1 %), только в одном случае (3.2 %) не было эффекта. В группе сравнения отличный результат был у 14 пациентов (48.3 %), хороший — у 11 (37.9 %), у 4 пациентов (13.8 %) терапия была неэффективна (рис. 4).

В настоящее время накоплен определенный опыт применения лонгидазы в урологии. Д.Ю. Пушкарь с соавт. [24, 25] сочли целесообразным назначение лонгидазы по 3000 ед. один раз в пять дней, всего 10 инъекций, с целью лечения и профилактики развития прогрессирующего фи-

10 injections, with the aim of treating and preventing the development of a progressive fibrotic process in patients with chronic prostatitis, as well as for the prevention of infravesical obstruction. V.P. Avdoshin et al. [26] also noted the high efficiency of antisclerotic therapy in the comprehensive treatment of patients with chronic prostatitis (the authors used Longidaza in rectal suppositories). A good result of therapy, according to the authors, is due to improved microcirculation and the abatement of scar-sclerotic processes in the prostate.

It was shown that the use of Longidaza in the standard therapy complex reliably contributes to



**Рис. 4.** Сравнительная эффективность комплексного лечения больных хроническим простатитом в ОГ и ГС  
**Fig. 4.** Comparative effectiveness of comprehensive treatment of patients with chronic prostatitis in MG and CG

брозного процесса у больных хроническим простатитом, а также для профилактики инфравезикальной обструкции. В.П. Авдошин с соавт. [26] также отметили высокую эффективность анти-склеротической терапии в комплексном лечении больных хроническим простатитом (авторы применяли лонгидазу в ректальных суппозиториях). Хороший результат терапии, по мнению авторов, обусловлен улучшением микроциркуляции и ослаблением рубцово-склеротических процессов в простате.

Показано, что использование лонгидазы в комплексе стандартной терапии достоверно способствует исчезновению или уменьшению симптомов заболевания, регрессии воспалительно-пролиферативных изменений в предстательной железе и снижает частоту обострений в 2.8 раза [27]. Л.А. Ходырева с соавт. [27] проанализировали результаты клинических исследований по применению лонгидазы при хроническом простатите, проведенных в клиниках Москвы. Проведено слепое, плацебо-контролируемое, рандомизированное исследование, клиническая фаза II [25]. В исследование включали больных хроническим бактериальным и абактериальным простатитом; результаты оценивали по шкале симптомов и нормализации объективных данных. Оказалось, что эффективность лечения в группе лонгидазы достигла 82.1 %, а в группе плацебо — 71.4 %. В другом сравнительном, рандоми-

the disappearance or reduction of disease symptoms, to the regression of inflammatory proliferative changes in the prostate gland, and reduces the frequency of exacerbations by 2.8 times [27]. L.A. Khodyreva et al. [27] analyzed the results of clinical studies on the use of Longidaza in chronic prostatitis, conducted in Moscow clinics. A blind, placebo-controlled, randomized trial, clinical phase II, was performed [25]. The study included patients with chronic bacterial and abacterial prostatitis; the results were evaluated on a scale of symptoms and normalization of objective data. It turned out that the effectiveness of treatment in the Longidaza group reached 82.1%, and in the placebo group — 71.4%. Another comparative randomized, placebo-controlled clinical trial revealed a decrease in prostate fibrosis, an enrichment of vascular pattern, and an increase in blood flow velocity in prostate vessels according to ultrasound dopplerography in patients with chronic prostatitis receiving Longidaza [28]. In the next study of the same authors [29], along with Longidaza, local low-intensity magnetic laser therapy was performed, which improved the final result of treatment.

The use of Longidaza in rectal suppositories, and to a greater extent in injections, contributed to the normalization of interleukins, components of the complement system, restored the functional ac-

зированной, плацебо-контролируемом клиническом исследовании отмечено уменьшение фиброза предстательной железы, обогащение сосудистого рисунка, повышение скорости потока крови в сосудах предстательной железы по данным ультразвукового доплерографического исследования у пациентов с хроническим простатитом, получавших лонгидазу [28]. В другом исследовании этих же авторов [29] наряду с лонгидазой проводили локальную низкоинтенсивную магнитолазерную терапию, что улучшило конечный результат лечения.

Применение лонгидазы в ректальных суппозиториях, и в большей мере — в инъекциях, способствовало нормализации интерлейкинов, компонентов системы комплемента, восстанавливало функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы в сочетании с хроническим простатитом [30].

Наличие фиброза в предстательной железе человека достоверно ухудшает локальную микроциркуляцию, а также негативно влияет на качество мочеиспускания. Следовательно, степень нарушения микроциркуляции и уродинамики опосредованно свидетельствует о фиброзировании простаты при хроническом простатите. Однако этот процесс может быть обратим при включении в комплексную терапию пролонгированного действия фермента гиалуронидазы за счет улучшения указанных выше показателей, что косвенно свидетельствует о регрессе фиброзных изменений.

В нашем исследовании переносимость лонгидазы была хорошая, ни в одном случае не развились сколько бы то ни было значимые побочные реакции. Лонгидаза обладает гиалуронидазной (ферментативной) активностью пролонгированного действия, хелатирующими, антиоксидантными и умеренно выраженными противовоспалительными свойствами, что подтвердилось достоверно более выраженным снижением числа лейкоцитов в секрете простаты в основной группе пациентов. Лонгидаза отличается способностью не только деполимеризовать матрикс соединительной ткани в фиброзно-гранулематозных образованиях, но и подавлять обратную регуляторную реакцию, направленную на синтез компонентов соединительной ткани; это свойство обусловило нарастание положительного эффекта в течение месяца после окончания курса лечения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антисклеротическая ферментотерапия препаратом лонгидаза в форме ректальных суппозиторий

способствовала достоверному уменьшению выраженности симптоматики простатита, улучшению параметров уродинамики и микроциркуляции простаты, что обосновывает включение препарата в комплексную терапию хронического простатита.

Наличие фиброза в предстательной железе человека достоверно ухудшает локальную микроциркуляцию и также негативно влияет на качество мочеиспускания. Следовательно, степень нарушения микроциркуляции и уродинамики опосредованно свидетельствует о фиброзировании простаты при хроническом простатите. Однако этот процесс может быть обратим при включении в комплексную терапию пролонгированного действия фермента гиалуронидазы за счет улучшения указанных выше показателей, что косвенно свидетельствует о регрессе фиброзных изменений.

В нашем исследовании переносимость лонгидазы была хорошая, ни в одном случае не развились сколько бы то ни было значимые побочные реакции. Лонгидаза обладает гиалуронидазной (ферментативной) активностью, хелатирующими, антиоксидантными и умеренно выраженными противовоспалительными свойствами, что подтвердилось достоверно более выраженным снижением числа лейкоцитов в секрете простаты в основной группе пациентов. Лонгидаза отличается способностью не только деполимеризовать матрикс соединительной ткани в фиброгранулематозных образованиях, но и подавлять обратную регуляторную реакцию, направленную на синтез компонентов соединительной ткани; это свойство обусловило нарастание положительного эффекта в течение месяца после окончания курса лечения.

## CONCLUSION

Antisclerotic enzyme therapy with Longidaza in the form of rectal suppositories contributed to a significant decrease in the intensity of prostatitis symptoms, improvement of urodynamics and microcirculation of the prostate, which justifies the inclusion of the drug in the comprehensive treatment of chronic prostatitis.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Longidaza in the form of rectal suppositories contributed to a significant decrease in the intensity of prostatitis symptoms, improvement of urodynamics and microcirculation of the prostate, which justifies the inclusion of the drug in the comprehensive treatment of chronic prostatitis.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. Resolution of chronic bacterial-induced prostatic inflammation reverses established fibrosis // *Prostate*. 2015. Vol. 75 (1). P. 23–32. doi: 10.1002/pros.22886.
2. Nickel J.C., Roehrborn C.G., O’Leary M.P. et al. The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial // *Eur. Urol.* 2008. Vol. 54. P. 1379–1384.
3. Roehrborn C.G. Definition of at-risk patients: baseline variables // *BJU Int.* 2006. Vol. 97 (2). P. 7–11.
4. Bergovich E., Barabino G., Pirozzi-Farina F., Deriu M. A multivariate analysis of lower urinary tract ageing and urinary symptoms: the role of fibrosis // *Arch. Ital. Urol. Androl.* 1999. Vol. 71. P. 287–292.
5. Ma J., Gharaee-Kermani M., Kunju L. et al. Prostatic fibrosis is associated with lower urinary tract symptoms // *J. Urol.* 2012. Vol. 188. P. 1375–1381.
6. Кудрявцев Ю.В., Чумаков А.М. Морфологические изменения в предстательной железе при хроническом простатите // *Современные аспекты диагностики и лечения хронического простатита: Материалы конференции. Курск, 2000. С. 81–82.*
7. Wight T.N., Potter-Perigo S. The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2011. Vol. 301. P. G950–G955.
8. Gordon M.K., Hahn R.A. Collagens // *Cell Tissue Res.* 2010. Vol. 339. P. 247–257.
9. Frantz C., Stewart K.M., Weaver V.M. The extracellular matrix at a glance // *J. Cell Sci.* 2010. Vol. 123 (24). P. 4195–4200.
10. Kadler K.E., Baldock C., Bella J., Boot-Handford R.P. Collagens at a glance // *J. Cell Sci.* 2007. Vol. 120 (12). P. 1955–1958.
11. *Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice.* 3rd ed. /eds. by J. Rodes et al. Malden Blackwell, 2007.
12. Thickett D.R., Poole A.R., Millar A.B. The balance between collagen synthesis and degradation in diffuse lung disease // *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2001. Vol. 18. P. 27–33.
13. Armstrong L., Thickett D.R., Mansell J.P. et al. Changes in collagen turnover in early acute respiratory distress syndrome // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999. Vol. 160. P. 1910–1915.
14. García-Bolao I., Lopez B., Macías A. et al. Impact of collagen type I turnover on the long-term response to cardiachronization therapy // *Eur. Heart J.* 2008. Vol. 29. P. 898–906.
15. Selman M., Montañó M., Ramos C., Chapela R. Concentration, biosynthesis and degradation of collagen in idiopathic pulmonary fibrosis // *Thorax.* 1986. Vol. 41. P. 355–359.
16. Кульчавеня Е.В., Краснов В.А., Мордык А.В. Альманах внелегочного туберкулеза. Новосибирск: Сибпринт, 2015. 247 с.
17. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. Prostatic inflammation induces fibrosis in a mouse model of chronic bacterial infection // *PLoS One.* 2014 Jun 20. Vol. 9 (6): e100770. doi: 10.1371/journal.pone.0100770.

## REFERENCES

1. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. (2015). Resolution of chronic bacterial-induced prostatic inflammation reverses established fibrosis. *Prostate*, 75 (1), 23–32. doi: 10.1002/pros.22886.
2. Nickel J.C., Roehrborn C.G., O’Leary M.P. et al. (2008). The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial. *Eur. Urol.*, 54, 1379–1384.
3. Roehrborn C.G. (2006). Definition of at-risk patients: baseline variables. *BJU Int.*, 97 (2), 7–11.
4. Bergovich E., Barabino G., Pirozzi-Farina F., Deriu M. (1999). A multivariate analysis of lower urinary tract ageing and urinary symptoms: the role of fibrosis. *Arch. Ital. Urol. Androl.*, 71, 287–292.
5. Ma J., Gharaee-Kermani M., Kunju L. et al. (2012). Prostatic fibrosis is associated with lower urinary tract symptoms. *J. Urol.*, 188, 1375–1381.
6. Kudryavtsev Yu.V., Chumakov A.M. (2000). Morphological changes in the prostate gland in chronic prostatitis. Modern aspects of diagnosis and treatment of chronic prostatitis: Conference Proc. Kursk, pp. 81–82. In Russ.
7. Wight T.N., Potter-Perigo S. (2011). The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, 301, G950–G955.
8. Gordon M.K., Hahn R.A. (2010). Collagens. *Cell Tissue Res.*, 339, 247–257.
9. Frantz C., Stewart K.M., Weaver V.M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.*, 123 (24), 4195–4200.
10. Kadler K.E., Baldock C., Bella J., Boot-Handford R.P. (2007). Collagens at a glance. *J. Cell Sci.*, 120 (12), 1955–1958.
11. Rodes J. et al. (eds.) (2007). *Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice.* 3<sup>rd</sup> ed. Malden Blackwell.
12. Thickett D.R., Poole A.R., Millar A.B. (2001). The balance between collagen synthesis and degradation in diffuse lung disease. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 18, 27–33.
13. Armstrong L., Thickett D.R., Mansell J.P. et al. (1999). Changes in collagen turnover in early acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 160, 1910–1915.
14. García-Bolao I., Lopez B., Macías A. et al. (2008). Impact of collagen type I turnover on the long-term response to cardiachronization therapy. *Eur. Heart J.*, 29, 898–906.
15. Selman M., Montañó M., Ramos C., Chapela R. (1986). Concentration, biosynthesis and degradation of collagen in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax*, 41, 355–359.
16. Kulchavenya E.V., Krasnov V.A., Mordyk A.V. (2015). *Almanac for Extrapulmonary Tuberculosis.* Novosibirsk: Sibprint, 247 p.
17. Wong L., Hutson P.R., Bushman W. (2014). Prostatic inflammation induces fibrosis in a mouse model of chronic bacterial infection. *PLoS One*, 9 (6): e100770. doi: 10.1371/journal.pone.0100770.

18. Cantiello F., Cicione A., Salonia A. et al. Periurethral fibrosis secondary to prostatic inflammation causing lower urinary tract symptoms: a prospective cohort study // *Urology*. 2013 May. Vol. 81 (5). P. 1018–1023. doi: 10.1016/j.urology.2013.01.053.
19. Hu Y., Niu X., Wang G. et al. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome impairs erectile function through increased endothelial dysfunction, oxidative stress, apoptosis, and corporal fibrosis in a rat model // *Andrology*. 2016 Nov. Vol. 4 (6). P. 1209–1216. doi: 10.1111/andr.12273.
20. Горбунова Е.Н., Крупин В.Н., Давыдова Д.А. Хроническое воспаление и фиброз как факторы риска простатических интраэпителиальных неоплазий и рака предстательной железы // *Совр. технологии в медицине*. 2011. № 1. С. 79–83.
21. Неймарк А.И., Киптилов А.В., Лапий Г.А. Клинические и патоморфологические особенности хронического простатита у рабочих химического производства // *Урология*. 2015. № 6. С. 68–73.
22. Зайцев А.В., Пушкарь Д.Ю., Ходырева Л.А., Дударева А.А. Хронический бактериальный простатит, расстройства мочеиспускания у мужчин и фиброз предстательной железы // *Урология*. 2016. № 4. С. 114–121.
23. Филимонов П.Н., Кульчавеня Е.В. Последствия избыточного формирования фиброза у больных хроническим простатитом // *РМЖ*. 2019. Т. 27, № 2. С. 39–41.
24. Пушкарь Д.Ю., Зайцев А.В., Сегал А.С. Лонгидаза в терапии хронического простатита // *Иммунология*. 2006. Т. 27, № 2. С. 119–121.
25. Пушкарь Д.Ю., Зайцев А.В., Сегал А.С. Лонгидаза в лечении хронического простатита // *Урология*. 2006. № 6. С. 26–28.
26. Авдошин В.П., Андриюхин М.И., Пульбере С.А., Макаров О.В., Михайликов Т.Г. Оценка клинической эффективности препарата Лонгидаза® в комплексном лечении больных хроническим простатитом // *Эффект. фармакотерапия*. 2012. № 43. С. 22–25.
27. Ходырева Л.А., Дударева А.А., Карпов В.К. Лонгидаза в комплексной терапии хронического простатита // *Эффект. фармакотерапия*. 2014. № 32. С. 10–15.
28. Авдошин В.П., Андриюхин М.И., Михайликов Т.Г. Опыт применения ферментной терапии в комплексном лечении хронического простатита // *Consilium medicum*. 2008. Т. 10, № 4. С. 114–117.
29. Авдошин В.П., Михайликов Т.Г., Андриюхин М.И., Ольшанская Е.В., Пульбере С.А. Оценка эффективности лечения больных хроническим простатитом препаратом лонгидаза 3000 МЕ // *Клин. фармакология и терапия*. 2010. Т. 19, № 4. С. 93–97.
30. Шатохин М.Н., Мальцев В.Н., Конопля А.И., Теодорович О.В. Клинико-иммунологическая эффективность различных лекарственных форм лонгидазы у больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы в сочетании с хроническим простатитом // *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2010. Т. 9, № 2. С. 327–331.
18. Cantiello F., Cicione A., Salonia A. et al. (2013). Periurethral fibrosis secondary to prostatic inflammation causing lower urinary tract symptoms: a prospective cohort study. *Urology*, 81 (5), 1018–1023. doi: 10.1016/j.urology.2013.01.053.
19. Hu Y., Niu X., Wang G. et al. (2016). Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome impairs erectile function through increased endothelial dysfunction, oxidative stress, apoptosis, and corporal fibrosis in a rat model. *Andrology*, 4 (6), 1209–1216. doi: 10.1111/andr.12273.
20. Gorbunova E.N., Krupin V.N., Davydova D.A. (2011). Chronic inflammation and fibrosis as risk factors for prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. *Modern Technologies in Medicine*, 1, 79–83. In Russ.
21. Neimark A.I., Kiptilov A.V., Lapii G.A. (2015). Clinical and pathomorphological features of chronic prostatitis in chemical industry workers. *Urologiia*, 6, 68–73.
22. Zaitsev A.V., Pushkar D.Yu., Khodyreva L.A., Dudareva A.A. (2016). Bacterial prostatitis and prostatic fibrosis: modern view on the treatment and prophylaxis. *Urologiia*, 4, 114–121.
23. Filimonov P.N., Kulchavenya E.V. (2019). Consequences of excessive fibrosis formation in patients with chronic prostatitis. *Russian Medical Journal*, 27 (2), 39–41.
24. Pushkar D.Yu., Zaitsev A.V., Segal A.S. (2006). Longidaza in therapy of chronic prostatitis. *Immunology*, 27, 2, 119–121.
25. Pushkar D.Yu., Zaitsev A.V., Segal A.S. (2006). Longidase in the treatment of chronic prostatitis. *Urologiia*, 6, 26–28.
26. Avdoshin V.P., Andryukhin M.I., Pulbere S.A., Makarov O.V., Mikhaylikov T.G. (2012). Evaluation of the clinical efficacy of Longidaza® in the comprehensive treatment of patients with chronic prostatitis. *Effective Pharmacotherapy*, 43, 22–25. In Russ.
27. Khodyreva L.A., Dudareva A.A., Karpov V.K. (2014). Longidaza in combination therapy of chronic prostatitis. *Effective Pharmacotherapy*, 32, 10–15. In Russ.
28. Avdoshin V.P., Andryukhin M.I., Mikhaylikov T.G. (2008). Experience of using enzyme therapy in the comprehensive treatment of chronic prostatitis. *Consilium Medicum*, 10, 4, 114–117. In Russ.
29. Avdoshin V.P., Mikhaylikov T.G., Andryukhin M.I., Olshanskaja E.V., Pulbere S.A. (2010). Evaluation of preparate Longidasa 3000 ME in complex treatment of patients with chronic prostatitis. *Clinical Pharmacology and Therapy*, 19, 4, 93–97.
30. Shatokhin M.N., Maltsev V.N., Konoplya A.I., Teodorovich O.V. (2010). Clinical and immunological efficiency of various medical forms longidaza at patients with the hyperplasia of the prostate in the combination to the chronic prostatitis. *System Analysis and Management in Biomedical Systems*, 9 (2), 327–331.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Кульчавеня Екатерина Валерьевна** — д-р мед. наук, профессор кафедры туберкулеза ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; гл. научный сотрудник ФГБУ «Новосибирский НИИ туберкулеза» Минздрава России.

**Баранчукова Анжелика Анатольевна** — канд. мед. наук, доцент кафедры туберкулеза ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач кабинета ультразвуковой диагностики ФГБУ «Новосибирский НИИ туберкулеза» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Кульчавеня Е.В., Баранчукова А.А. Эффективность ферментотерапии в комплексном лечении больных хроническим абактериальным простатитом (категории IIIa) // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020. № 1. С. 17–30.

## ABOUT THE AUTHORS

**Kulchavenya Ekaterina Valeryevna** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Tuberculosis, Novosibirsk State Medical University; Chief Researcher, Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis.

**Baranchukova Anzhelika Anatolyevna** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Tuberculosis, Novosibirsk State Medical University; Doctor, Ultrasound Diagnostic Cabinet, Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis.

**Citation example:** Kulchavenya E.V., Baranchukova A.A. (2020). The effectiveness of enzyme therapy in the comprehensive treatment of patients with chronic abacterial prostatitis (category IIIa). *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 17–30.

## Организационно-фармацевтические аспекты совершенствования лекарственного обеспечения детей (на примере Санкт-Петербурга)

Наркевич И.А., Немятых О.Д., Медведева Д.М., Смехова И.Е., Ладутько Ю.М., Стрелков С.В.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»  
Минздрава России

## Organizational and pharmaceutical aspects of improving medicinal provision of children (on the example of St. Petersburg)

Narkevich I.A., Nemyatykh O.D., Medvedeva D.M., Smekhova I.E., Ladutko Yu.M., Strelkov S.V.

St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University

### АННОТАЦИЯ

В работе рассматривается проблема обеспечения детей безопасными и эффективными лекарственными препаратами (ЛП). Отсутствие лекарственных средств, обеспечивающих возрастное дозирование активных ингредиентов и соответствующих современному уровню развития педиатрии, является причиной нерациональных (off-label, unlicensed drug) назначений. Согласно опроса 157 экспертов из Санкт-Петербурга (врачей высшей категории, работающих в отделениях педиатрического профиля), терапия «вне инструкции» представлена 113 международными непатентованными наименованиями ЛП, относящихся к 40 фармакотерапевтическим группам — преимущественно в формах таблеток (51.79 %), растворов для инъекций (13.86 %), а также капсул (8.64 %).

Решение проблемы «детских лекарств» возможно путем организации мелкосерийного и индивидуального аптечного изготовления препаратов. На сегодняшний день на территории Российской Федерации (РФ) зарегистрировано право на изготовление лекарственных препаратов для медицинского применения у 1648 лицензиатов, возможность изготовления наркотических средств, психотропных веществ имеют менее 2 % лицензиатов, 1/4 всех производственных аптек сконцентрированы в двух субъектах РФ: Москве (12 %) и Санкт-Петербурге (9 %). Проблема индивидуального изготовления лекарственных препаратов во многом обусловлена несовершенством нормативно-правового регулирования фармацевтической деятельности в данной области. На основе систематизации результатов глубинного интервьюирования руководителей производственных аптек Санкт-Петербурга предложены пути совершенствования существующих механизмов государственного регулирования.

**Ключевые слова:** лекарственное обеспечение детей, индивидуальное изготовление лекарственных препаратов, аптечная организация.

### ABSTRACT

The paper deals with the problem of providing children with safe and effective medications. The lack of medicines that ensure age-related dosing of active ingredients and correspond to the current level of development of pediatrics is the reason for irrational (off-label, unlicensed drug) administrations. According to a survey of 157 experts from St. Petersburg (doctors of the highest category working in pediatric departments), off-label therapy is represented by 113 international nonproprietary names of drugs belonging to 40 pharmacotherapeutic groups — mainly in the form of tablets (51.79%), solutions for injection (13.86%), as well as capsules (8.64%).

The problem of children-appropriate medicines can be solved by organizing small-scale and individual pharmaceutical manufacturing of drugs. To date, on the territory of the Russian Federation, 1648 licensees have registered the right to manufacture drugs for medical use, less than 2% of licensees have the ability to manufacture narcotic drugs, psychotropic substances, 1/4 of all compounding pharmacies are concentrated in two regions of the Russian Federation: Moscow (12%) and St. Petersburg (9%). The problem of the individual manufacturing of medicines is largely due to the imperfection in

Поступила 10.09.2019  
Принята 15.11.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Медведева Дарья Михайловна: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. 197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14 лит. А.  
E-mail: darya.medvedeva@pharminnotech.com

Received 10.09.2019  
Accepted 15.11.2019

\*Corresponding author  
Medvedeva Darya Michaylovna: St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov Str., St. Petersburg, 197376, Russia.  
E-mail: darya.medvedeva@pharminnotech.com

regulatory environment in pharmaceutical industry. Based on the systematization of the results of fundamental interviewing of compounding pharmacies managers in St. Petersburg, ways to improving the existing mechanisms of state regulation are proposed.

**Keywords:** medicines provision for children, individual manufacturing of drugs, pharmacy organization.

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на успехи, достигнутые российской фармацевтической отраслью, проблема обеспечения детей и подростков безопасными и эффективными лекарственными препаратами (ЛП) в приемлемых формах выпуска остается до конца не решенной. Анализ Национального педиатрического формуляра показывает, что даже в этом документе возможности использования у детей и возрастные ограничения указаны производителями только для 37.30 % препаратов; 74.05 % позиций Национального педиатрического формуляра относятся к списку жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, при этом лишь 31.08 % включены в аналогичный формуляр ВОЗ [1].

Наличие нерациональных (off-label, unlicensed drug) назначений продиктовано тяжестью патологии и отсутствием альтернативных, разрешенных к применению в детской практике, лекарственных препаратов. Проблема осложняется также отсутствием целого ряда детских лекарственных форм, обеспечивающих возрастное дозирование фармакологически активных ингредиентов, эффективность и удобство использования для лечения пациентов до года, пациентов с угрожающими жизни состояниями и детей, нуждающихся в паллиативной помощи [2, 3].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести оценку организационно-фармацевтических аспектов и определить пути совершенствования лекарственного обеспечения детей на примере Санкт-Петербурга.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили Государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС) по состоянию на 24.04.2019 [4], единый реестр лицензий Росздравнадзора по состоянию на 24.04.2019 [5], анкеты экспертов.

Экспертный опрос проводился методом анкетирования 157 экспертов — врачей высшей категории, которые имеют стаж работы в отделениях педиатрического профиля 5 медицинских организаций Санкт-Петербурга от 10 лет и более, при этом более 30 % респондентов непосредственно участвуют в формировании заявок на за-

## INTRODUCTION

Despite the successes achieved by the Russian pharmaceutical industry, the problem of providing children and adolescents with safe and effective drugs in acceptable presentation remains not fully resolved. An analysis of the National Pediatric Formulary shows that even in this document, the possibilities of use in children and age restrictions are indicated by manufacturers for only 37.30% of the drugs; 74.05% of the National Pediatric Formulary items belong to the list of vital and most important drugs, while only 31.08% are included in the same WHO form [1].

The presence of irrational (off-label, unlicensed drug) prescriptions is caused by the severity of the pathology and the lack of alternative medicines approved for use in pediatric practice. The problem is also complicated by the lack of a number of children's formulations that provide age-related dosage of pharmacologically active ingredients, effectiveness and ease of use for treatment of patients under 1 year of age, as well as patients with life-threatening conditions and children requiring palliative care [2, 3].

## AIM OF THE RESEARCH

Assess organizational and pharmaceutical aspects and determine ways to improve the medicine provision of children using the example of St. Petersburg.

## MATERIALS AND METHODS

The objects of the study were the State Register of Medicines as of April 24, 2019 [4], the Unified Register of licenses of Federal Service for Surveillance in Healthcare (FSSH) as of April 24, 2019 [5], and questionnaires of experts.

An expert survey was conducted using the questionnaire method in which 157 experts took part — doctors of the highest category who have worked in pediatric departments of 5 medical organizations of St. Petersburg for 10 years or more, besides more than 30% of respondents directly participated in the formation of applications for the purchase of drugs for children. We also conducted in-depth interviews with 15 managers of

купки ЛП для детей. Также проводили глубинное интервьюирование 15 руководителей производственных аптек с опытом работы в практической фармации Санкт-Петербурга от 10 лет и более, предполагавшее получение от респондента развернутых ответов в части организационно-фармацевтических аспектов внутриаптечного изготовления лекарственных препаратов для педиатрии.

Данные обрабатывали с использованием программы Excel 2016 (Microsoft).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что в педиатрической практике терапия «вне инструкции» представлена 113 международными непатентованными наименованиями (МНН). При этом обращает на себя внимание острая нехватка детских лекарственных форм в категории J01 «Антибактериальные препараты системного действия» (табл. 1).

Структуризация ассортимента «off-label назначений» по лекарственным формам показала, что препараты представлены преимущественно в формах таблеток (51.79 %), растворов для инъекций (13.86 %), а также капсул (8.64 %) (рис. 1).

Установлено, что в структуре «off-label назначений» 33.8 % ассортимента не ориентировано на педиатрическую практику (рис. 2).

Решение проблемы «детских лекарств» путем организации промышленного производства потребует больших инвестиций в строительство (реконструкцию, модернизацию, переоснащение) фармацевтических предприятий, длительных сроков (3–6 лет) реализации инвестиционных проектов, а также формирования механизмов компенсации производителям затрат при

compounding pharmacies of St. Petersburg with experience in practical pharmaceuticals of 10 years or more, which implied receiving detailed answers from the respondent regarding organizational and pharmaceutical aspects of the intrapharmacy manufacturing of medicines for pediatrics.

Data were processed using Excel 2016 (Microsoft).

## RESULTS AND DISCUSSION

The data obtained indicate that in pediatric practice, off-label therapy is represented by 113 international nonproprietary names (INN). At the same time, an acute shortage of pediatric dosage forms in category J01 Systemic antibacterial drugs (Table 1) is noteworthy.

Structuring the assortment of off-label administrations by dosage forms showed that the drugs are presented mainly in the form of tablets (51.79%), solutions for injection (13.86%), and capsules (8.64%) (Fig. 1).

It was found that in the structure of off-label administrations 33.8% of the assortment is not intended for use in pediatric practice (Fig. 2).

Solving the problem of children-appropriate medicines by organizing industrial production will require large investments in construction (reconstruction, modernization, re-equipment) of pharmaceutical enterprises, long terms (3–6 years) for the implementation of investment projects, and the formation of cost compensation mechanisms to manufacturers for small volumes of manufactured batches. In addition, industrial production is not effective in the case of the release of drugs with short shelf life, which include most

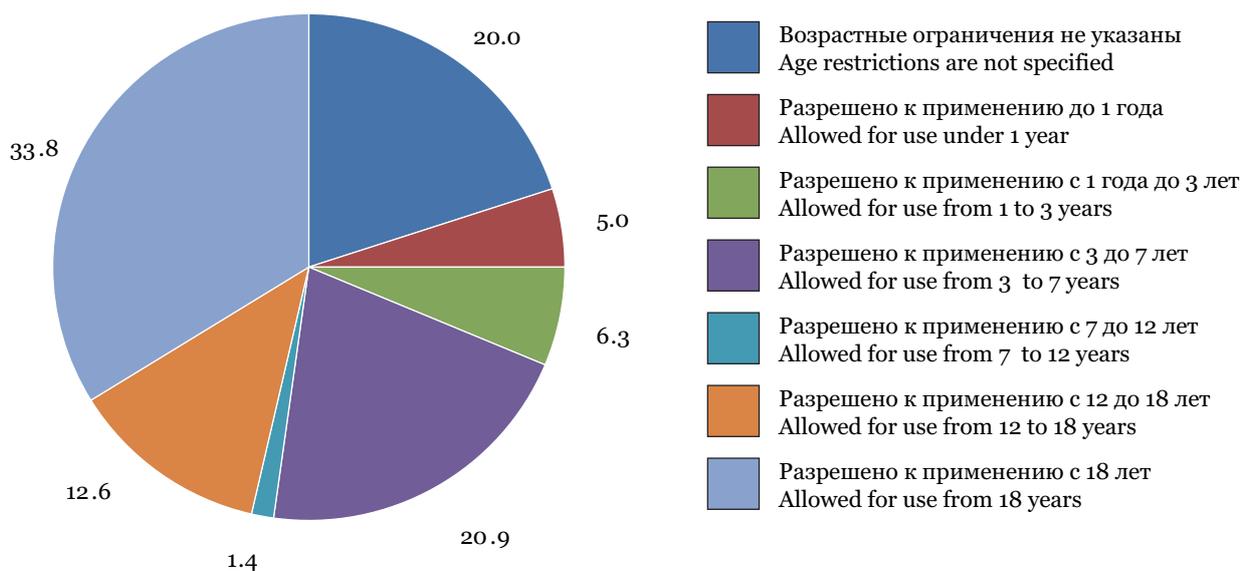
**Таблица 1.** Структуризация «off-label назначений» по фармакотерапевтическому действию

**Table 1.** Structuring of off-label administrations by pharmacotherapeutic action

Код группы Group code	Наименование группы Group name	Количество МНН Number of INN
J01	Антибактериальные препараты системного действия / Systemic antibacterial drugs	12
A07	Противодиарейные, кишечные противовоспалительные и противомикробные препараты / Antidiarrheal, intestinal anti-inflammatory and antimicrobial drugs	7
N03	Противоэпилептические препараты / Antiepileptic drugs	7
L04	Иммунодепрессанты / Immunosuppressants	6
R06	Антигистаминные средства системного действия / Systemic antihistamines	6
G04	Препараты, применяемые в урологии / Drugs used in urology	5
J05	Противовирусные препараты системного действия / Systemic antiviral drugs	5

Окончание таблицы 1 / The end of the Table

Код группы Group code	Наименование группы Group name	Количество МНН Number of INN
№02	Анальгетики / Analgesics	4
А03	Препараты для лечения функциональных нарушений желудочно-кишечно-го тракта / Drugs for the treatment of functional disorders of the gastrointestinal tract	3
С01	Препараты для лечения заболеваний сердца / Drugs for the treatment of heart disease	3
С03	Диуретики / Diuretics	3
М01	Противовоспалительные и противоревматические препараты / Anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs	3
М03	Миорелаксанты центрального действия / Central action muscle relaxants	3
№05	Психолептики / Psycholeptics	3
Р03	Препараты для лечения обструктивных заболеваний дыхательных путей / Drugs for the treatment of obstructive airways diseases	3
А05	Препараты для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей / Drugs for the treatment of the liver and biliary tract diseases	2
В01	Антитромботические средства / Antithrombotic agents	2
В05	Кровезаменители и перфузионные растворы / Blood substitutes and perfusion solutions	2
С05	Ангиопротекторы / Vasoprotectives	2
С07	Бета-адреноблокаторы / Beta-blockers	2
Г01	Противомикробные препараты и антисептики, применяемые в гинекологии / Antimicrobials and antiseptics used in gynecology	2
Р05	Противокашлевые препараты и средства для лечения простудных заболеваний / Antitussive drugs and medicines for the treatment of colds	2
С01	Офтальмологические препараты / Ophthalmic drugs	2
Д06	Антибиотики и противомикробные средства, применяемые в дерматологии / Antibiotics and antimicrobials used in dermatology	2
А02	Препараты для лечения заболеваний, связанных с нарушением кислотности / Drugs for the treatment of acid-related diseases	1
А09	Препараты, способствующие пищеварению, включая ферментные препараты / Digestive aids, including enzyme drugs	1
А11	Витамины / Vitamins	1
А12	Минеральные добавки / Mineral supplements	1
В02	Гемостатические средства / Hemostatic agents	1
В03	Антифибринолитические средства / Antifibrinolytic agents	1
С02	Антигипертензивные средства / Antihypertensive drugs	1
С04	Периферические вазодилататоры / Peripheral vasodilators	1
С09	Средства, действующие на ренин-ангиотензиновую систему / Drugs acting on the renin-angiotensin system	1
Д08	Антисептики и дезинфицирующие средства / Antiseptics and disinfectants	1
Н01	Гормоны гипофиза и гипоталамуса и их аналоги / Pituitary and hypothalamic hormones and their analogues	1
Н02	Кортикостероиды системного действия / Systemic corticosteroids	1
Ж02	Противогрибковые препараты системного действия / Systemic antifungal drugs	1
Л01	Противоопухолевые препараты / Antineoplastic drugs	1
Л03	Иммуностимуляторы / Immunostimulants	1



**Рис. 2.** Структуризация «off-label назначений» по особенностям применения в педиатрии (%)  
**Fig. 2.** Structuring of off-label administrations by specifics of use in pediatrics (%)

малых объемах выпускаемых партий продукта. Кроме того, промышленное производство является не эффективным в случае выпуска лекарственных средств с короткими сроками годности, к которым относятся большинство лекарств для новорожденных и детей до года, а также препаратов, рецептура которых не включает традиционно используемые в промышленном производстве высокоактивные консерванты и стабилизаторы [1, 6, 7].

Стоит отметить, что индустриальная фармацевтическая разработка лекарственных средств для педиатрии обостряет также ряд этических вопросов в части проведения биомедицинских исследований, что, в свою очередь, определяет сложность, длительность и высокую стоимость иницируемых потенциальным производителем доклинических и клинических испытаний [1].

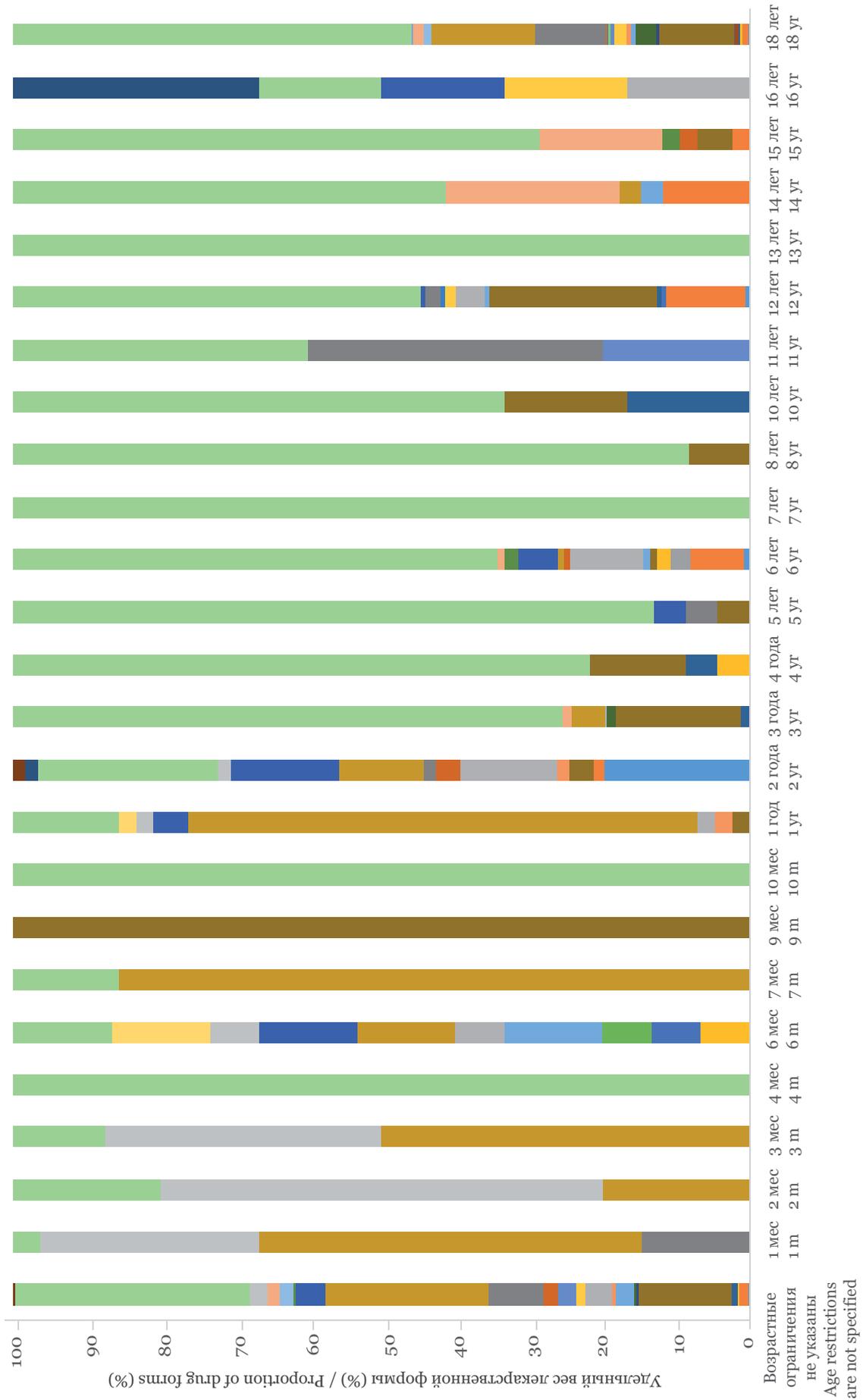
Альтернативным вариантом является организация мелкосерийного и индивидуального аптечного изготовления препаратов путем создания (модернизации) производственных аптек (фармацевтических центров) в субъектах Российской Федерации, а также модернизации аптек перинатальных центров, родильных домов и детских стационаров в соответствии с требованиями надлежащей аптечной и производственной практики, правил оборота наркотических и психотропных веществ и их прекурсоров и иных нормативных документов в сфере обращения лекарственных средств [8, 9].

drugs for newborns and children under 1 year of age, as well as drugs the formulation of which does not include highly active preservatives and stabilizers traditionally used in industrial production [1, 6, 7].

It is worth noting that the industrial pharmaceutical development of medicines for pediatrics emphasizes also a number of ethical issues in terms of conducting biomedical research, which, in turn, determines the complexity, duration and high cost of preclinical and clinical trials initiated by a potential manufacturer [1].

An alternative variant is the organization of small-scale and individual pharmacy manufacturing of drugs by creating (modernizing) compounding pharmacies (pharmaceutical centers) in the constituent entities of the Russian Federation, as well as modernizing pharmacies of perinatal centers, maternity and children's hospitals in accordance with the requirements of good pharmacy and manufacturing practice, rules of circulation of narcotic and psychotropic substances and their precursors and other regulatory documents in the field of drug circulation [8, 9].

Modification of pharmaceutical care for children, associated with the formation of pharmacies with the right to manufacture drugs (pharmaceutical centers) offers in the segment of extemporaneous dosage forms, can provide a relatively low cost of the final product, as well as a significant reduction in patient care.



Эликсир / Elixir	Трансдермальная терапевтическая система Transdermal therapeutic system
Суспензия ректальная / Rectal suspension	Суспензия для ингаляций / Suspension for inhalation
Суппозитории ректальные / Rectal suppositories	Суппозитории вагинальные / Vaginal suppositories
Сироп / Syrup	Раствор для инъекций / Solution for injections
Раствор для приема внутрь / Oral solution	Пена для ректального применения / Rectal foam
Лиофилизат для приготовления раствора для инъекций Lyophilisate for solution for injections	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий Lyophilisate for solution for infusion
Мазь глазная / Eye ointment	Крем для наружного применения Cream for external use
Концентрат для приготовления раствора для инъекций Concentrate for solution for injections	Капсулы / Capsules
Капли глазные / Eye drops	Драже / Pills
Гранулы для приготовления раствора Granules for solution	Гранулы для приема внутрь / Oral granules
Гель для наружного применения / Gel for external use	Аэрозоль / Aerosol
Таблетки / Tablets	Мазь для наружного применения Ointment for external use
Суспензия для приема внутрь / Oral suspension	Концентрат для приготовления раствора для инфузий Concentrate for solution for infusions
Спрей / Spray	Капли назальные / Nasal drops
Раствор для инфузий / Solution for infusions	Гранулы для приготовления суспензии Granules for suspension
Лиофилизат для приготовления суспензии Lyophilisate for suspension	Гель стоматологический / Dental gel

**Рис. 1.** Структуризация «off-label назначений» по лекарственным формам  
**Fig. 1.** Structuring of off-label administrations by pharmaceutical forms

Модификация фармацевтической помощи детям, связанная с формированием аптеками с правом изготовления лекарственных средств (фармацевтическими центрами) предложения в сегменте экстемпоральных препаратов, способна обеспечить сравнительно невысокую себестоимость конечного продукта, а также существенное сокращение сроков обслуживания пациентов.

Выявлено, что на сегодняшний день на территории Российской Федерации есть право на изготовление лекарственных препаратов для медицинского применения у 1648 лицензиатов. При этом возможность изготовления наркотических средств, психотропных веществ Списка II Перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, существует у 68 аптечных организаций; право на изготовление психотропных веществ Списка III Перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, есть у 195 лицензиатов, что суммарно составляет менее 2 % Реестра лицензий Росздравнадзора в части фармацевтической деятельности.

Установлено, что 1/4 всех производственных аптек сконцентрированы в двух субъектах РФ, а именно: в Москве (12 %) и Санкт-Петербурге (9 %) (рис. 3, табл. 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что подавляющее (более 50 %) число производственных аптек являются структурными подразделениями медицинских организаций (рис. 4).

It was revealed that today on the territory of the Russian Federation 1 648 licensees have the right to manufacture drugs for medical use. At the same time, 68 pharmacy organizations have the opportunity to manufacture narcotic drugs and psychotropic substances of List II of the Listing of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors subject to control in the Russian Federation; 195 licensees have the right to manufacture psychotropic substances of List III of the Listing of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors that are subject to control in the Russian Federation, which in total is less than 2% of the Register of licences of FSSH for pharmaceutical activities.

It was established that 1/4 of all compounding pharmacies are concentrated in two constituent entities of the Russian Federation, namely: in Moscow (12%) and St. Petersburg (9%) (Fig. 3, Table 2).

It is noteworthy that the overwhelming (over 50%) number of compounding pharmacies are subdivisions of medical organizations (Fig. 4).

The problem of the individual manufacture of drugs is largely due to the imperfection of the legal regulation of pharmaceutical practice in this area. Based on the systematization of the results of in-depth interviewing of the compounding pharmacies managers, ways of improving the existing mechanisms of state regulation are proposed, namely:

1. Since, according to paragraph 3 of the Order of the Ministry of Health of the Russian Federa-

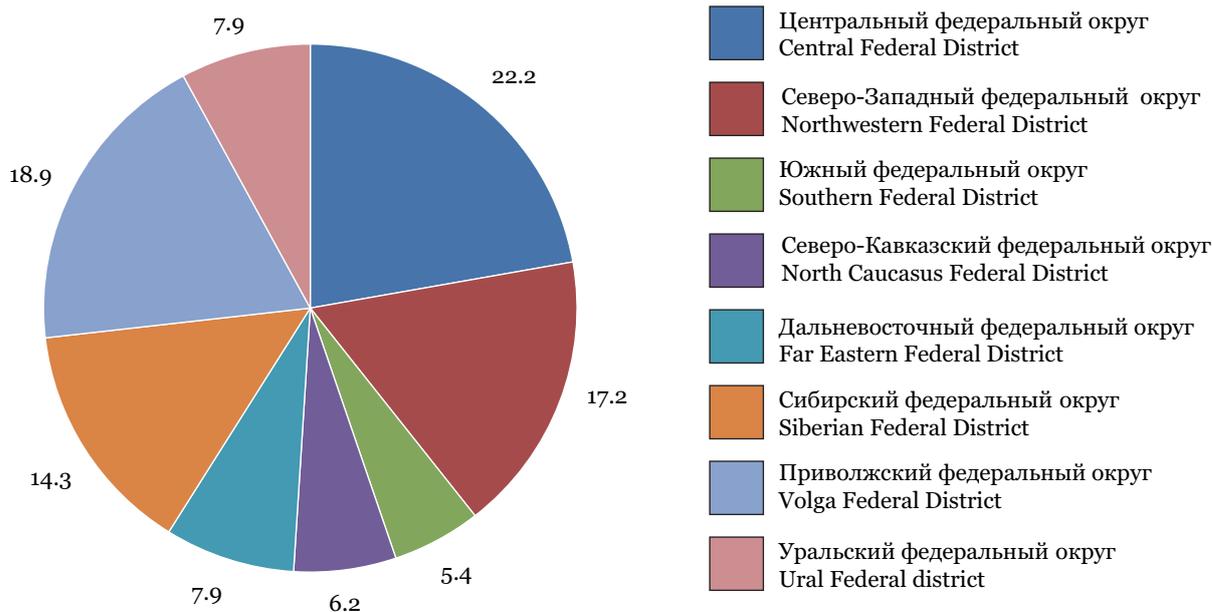


Рис. 3. Структуризация производственных аптек по территориальному признаку (%)  
Fig. 3. The structuring of compounding pharmacies by territorial factor (%)

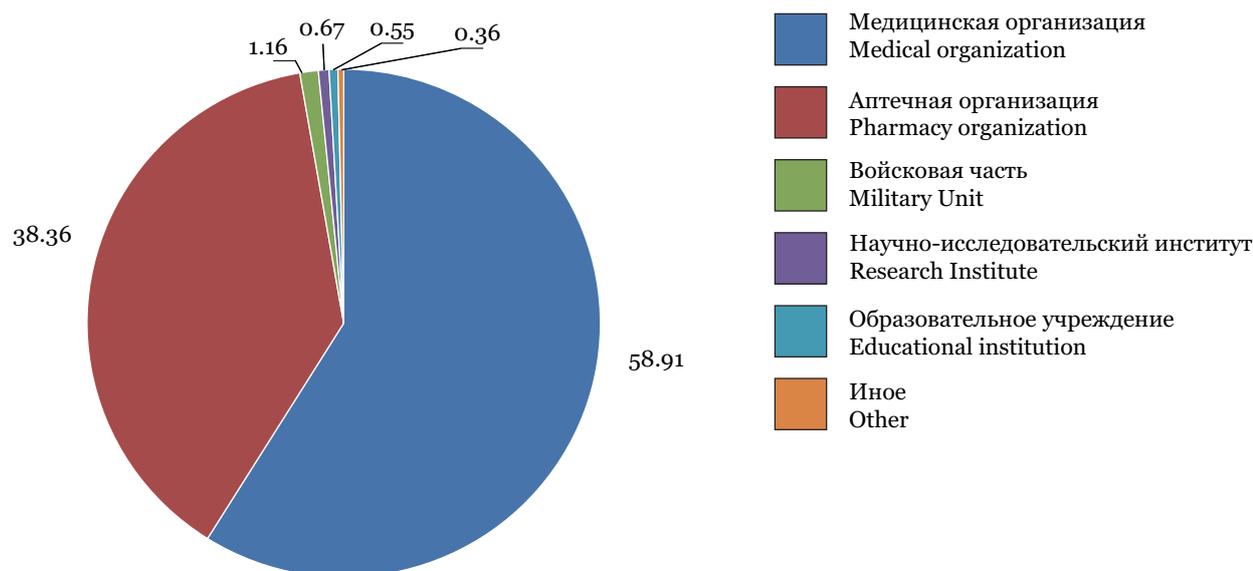
**Таблица 2.** ТОП-10 субъектов Российской Федерации по наличию производственных аптек с правом производства ЛП**Table 2.** TOP 10 constituent entities of the Russian Federation by the availability of compounding pharmacies with the right to manufacture drugs

Регион / Region	Количество аптек / Number of pharmacies
Москва / Moscow	200
Санкт-Петербург / St. Petersburg	147
Московская область / Moscow Region	81
Нижегородская область / Nizhny Novgorod Region	59
Ставропольский край / Stavropol Territory	49
Самарская область / Samara Region	48
Иркутская область / Irkutsk Region	39
Республика Саха (Якутия) / The Republic of Sakha (Yakutia)	40
Свердловская область / Sverdlovsk Region	38
Республика Башкортостан / The Republic of Bashkortostan	38

Проблема индивидуального изготовления лекарственных препаратов во многом обусловлена несовершенством нормативно-правового регулирования фармацевтической деятельности в данной области. На основе систематизации результатов глубинного интервьюирования руководителей производственных аптек предложены пути совершенствования существующих механизмов государственного регулирования, а именно:

1. Поскольку, согласно п. 3 приказа Минздрава РФ 751н, при изготовлении ЛП используются фармацевтические субстанции, включенные в Государственный реестр ЛС для медицинского при-

тион 751н, pharmaceutical substances are used in the medicines production that are included in the State Register of Drugs for medical use, it is necessary to amend the Federal Law dated 12/04/2010 No. 61-FZ, paragraph 5, article 13, chapter 6, where it is indicated that pharmaceutical substances are not subject to state registration. Moreover, it is necessary to oblige to register in the State Register of Drugs the substances available at pharmaceutical companies purchased (manufactured) by them for the release of officinal drugs, providing the possibility of dispensing product volumes of up to 0.5 kg [10, 11].



**Рис. 4.** Структуризация производственных аптек по ведомственной принадлежности (%)  
**Fig. 4.** Structuring of compounding pharmacies by territorial factor (%)

менения, необходимо внести изменения в Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ, п. 5, ст. 13, гл. 6, где указано, что фармацевтические субстанции государственной регистрации не подлежат. Более того, необходимо обязать регистрировать в Государственном реестре ЛС субстанции, имеющиеся на фармацевтических предприятиях, приобретенных (производимых) ими для выпуска готовых ЛП, обеспечивая возможность отпуска объемов продукта в количестве до 0.5 кг [10, 11].

2. Определить Порядок утверждения методических рекомендаций по требованиям, методам контроля качества и методикам анализа ЛС, изготовленных в аптеке, в соответствии с п. 4 Приказа Минздрава РФ 751н: «Качество изготовленного ЛП определяется его соответствием требованиям фармакопейной статьи, общей фармакопейной статьи (ОФС) либо в случае их отсутствия — документа в области контроля качества, содержащего требования и методы определения качества изготовленных ЛП» [10].

3. Внести изменения в Федеральный закон от 08.01.1998 № 3-ФЗ, дав право аптечным организациям со 100 % участием в уставном капитале города федерального значения осуществлять изготовление наркотических средств и психотропных веществ, внесенных в Список II. В настоящее время, согласно п. 4 ст. 5 гл. 1 этого закона, «изготовление и уничтожение наркотических средств и психотропных веществ (за исключением уничтожения конфискованных или изъятых из незаконного оборота наркотических средств и психотропных веществ), внесенных в Список II, могут осуществляться входящими в муниципальную систему здравоохранения муниципальными унитарными предприятиями и муниципальными учреждениями в порядке, установленном настоящим федеральным законом и принимаемыми в соответствии с ним нормативными правовыми актами РФ, при оказании медицинской помощи гражданам в РФ медицинскими организациями муниципальной системы здравоохранения» [12].

4. Упростить требования к допуску к должности провизора-аналитика, предоставляя возможность работы при условии успешного прохождения процедуры первичной аккредитации специалиста.

5. На основе перечня востребованных и часто выписываемых врачами прописей утвердить ассортимент экстемпоральных ЛП для исследования сроков годности.

6. Предоставить оптовым организациям право фасовки субстанций для последующей их реализации в аптечные организации.

2. Determine the Procedure for approving methodological recommendations on requirements, quality control methods and analysis methods for drugs manufactured in a pharmacy in accordance with paragraph 4 of the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation 751n: “Quality of the manufactured drug is determined by its compliance with the requirements of the pharmacopeia article, general pharmacopeia article (GPA), or in the case of their absence — a document in the field of quality control containing requirements and methods for determining the quality of manufactured drugs” [10].

3. Amend the Federal Law of 08/01/1998 No. 3-FZ, giving pharmacy organizations with full ownership of a federal city the right to manufacture narcotic drugs and psychotropic substances registered in the List II. Currently, according to paragraph 4, article 5, chapter 1 of this law, “the manufacturing and destruction of narcotic drugs and psychotropic substances (with the exception of the destruction of narcotic drugs and psychotropic substances confiscated or withdrawn from illicit trafficking) included in the List II may be carried out by municipal unitary enterprises and municipal institutions included in the municipal health system in the manner established by this federal law and the regulatory legal acts of the Russian Federation adopted in accordance with it in the provision of medical care to citizens of the Russian Federation by medical organizations of the municipal healthcare system” [12].

4. Simplify the requirements for admission to the position of pharmacist-analyst, providing the opportunity to work subject to the successful completion of the procedure for initial accreditation of a specialist.

5. On the basis of the list of high-demand and often prescribed by doctors formulations, approve the assortment of compounded dosage forms for the shelf life determination.

6. To provide wholesale organizations with the right to pack substances for their subsequent sale to pharmacy organizations.

7. In order to make it possible for pharmacy organizations to use modern closures, develop and approve sterilization procedures for modern packaging made of polymeric materials, vials with dropper, aerosol dispenser etc. in a pharmacy.

8. To develop a methodology for subsidizing intra-pharmacy manufacturing of drugs at the regional level.

7. В целях возможности использования аптечными организациями современных укупорочных средств разработать и утвердить методики стерилизации в условиях аптеки современных упаковок из полимерных материалов, флаконов с капельницей, с аэрозольным распылителем и т. п.

8. Разработать методику субсидирования внутриаптечного изготовления ЛП на региональном уровне.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая все вышеперечисленное, есть основания заключить, что возможности оказания медицинской помощи детям лимитированы ассортиментом ЛП преимущественно в формах таблеток, капсул и растворов для инъекций. Одним из важнейших направлений совершенствования лекарственного обеспечения детей на сегодняшний день представляется разработка составов и технологии лекарственных форм индивидуального изготовления, что, в свою очередь, согласуется с концепцией персонифицированной медицины с учетом ценностно-ориентированного подхода и предполагает использование активных фармацевтических субстанций, эффективность и совместимость большинства из которых предсказуема и проверена многолетним опытом применения в клинической практике. Более того, комбинации лекарственных веществ, их дозы, кратность приема, а также вид лекарственной формы и путь введения в организм для препарата аптечного изготовления носят индивидуальный характер, что позволяет в максимальной степени обеспечить вариабельность терапии для каждого пациента.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Наркевич И.А., Нямятых О.Д., Басакина И.И., Сиукаева Д.Д. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов для педиатрической практики: фундаментальные основы и специфические особенности // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 3 (16). С. 194–201.
2. Марцевич С.Ю., Навасардян А.Н., Комкова Н.А. Назначение лекарственных средств не в соответствии с официальной инструкцией по медицинскому применению (off-label). Возможные причины, виды и последствия. Правовое регулирование в Российской Федерации // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2017. Т. 13, № 5. С. 667–674.
3. Gore R., Chugh P.K., Tripathi C.D., Lhamo Y., Gautam S. Pediatric off-label and unlicensed drug use and its implications / *Curr. Clin. Pharmacol.* 2017. Vol. 12 (1). P. 18–25.
4. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. Дата обращения: 05.04.2019.

## CONCLUSION

Summarizing all of the above, there is reason to conclude that the possibilities of providing medical care to children are limited by the range of drugs mainly in the tablets, capsules and injectable solutions. One of the most important directions for improving the drug supply for children today is the development of the compositions and technology of individual dosage forms, which, in turn, is consistent with the concept of personalized medicine taking into account the value-oriented approach and involves the use of active pharmaceutical substances, the efficacy and compatibility of most of which is predictable and verified by many years of experience in clinical practice. Moreover, combinations of medicinal substances, their doses, dosage frequency, as well as the type of dosage form and way of administration of a pharmaceutical preparation are individual in nature, which allows for maximum variability of therapy for each patient.

Pharmaceutical activity in the field of intrapharmacy production of medicines needs to improve the mechanisms of state regulation.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Фармацевтическая деятельность в области внутриаптечного изготовления лекарственных препаратов нуждается в совершенствовании механизмов государственного регулирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## REFERENCES

1. Narkevich I.A., Nemyatykh O.D., Basakina I.I., Siukaeva D.D. (2016). Pharmaceutical development of drugs for pediatric practice: fundamental and specific features. *Drug Development and Registration*, 3 (16), 194–201.
2. Martsevich S.Yu., Navasardjan A.N., Komkova N.A. (2017). Off-label prescribing. Possible causes, types and consequences. Legal regulation in the Russian Federation. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*, 13, 5, 667–674.
3. Gore R., Chugh P.K., Tripathi C.D., Lhamo Y., Gautam S. (2017). Pediatric off-label and unlicensed drug use and its implications. *Curr. Clin. Pharmacol.*, 12 (1), 18–25.
4. State Register of Drugs. Retrieved April 5, 2019 from <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>.
5. Unified Register of Licenses of Federal Service for Surveillance in Healthcare. Retrieved April 20, 2019 from <http://www.roszdravnadzor.ru/services/licenses>.

5. Единый реестр лицензий Росздравнадзора. URL: <http://www.roszdravnadzor.ru/services/licenses>. Дата обращения: 20.04.19.
6. World Health Organization, 2012. Development of Paediatric Medicines: Points to Consider in Formulation. URL: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19833en/s19833en.pdf>. Дата обращения: 15.11.2019.
7. Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Краснюк И.И. (мл.) и др. Использование готовых лекарственных препаратов при экстенпоральном изготовлении порошков // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 1 (18). С. 82–85.
8. Мороз Т.Л., Рыжова О.А. Проблемы лекарственного обеспечения лечебно-профилактических учреждений в связи с сокращением внутриаптечного изготовления лекарственных препаратов // Ремедиум. 2015. № 1–2. С. 43–46.
9. Егорова С.Н., Неволина Е.В. Аптечное изготовление лекарственных форм: проблемы, требующие правового решения // Вестн. Росздравнадзора. 2013. № 6. С. 36–38.
10. Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 26 октября 2015 г. № 751н // Система ГАРАНТ. URL: <http://base.garant.ru/71385104/8a92ded1be63b3a1049eb96ded1cc15/>. Дата обращения: 25.03.2019.
11. Об обращении лекарственных средств: Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ // Система ГАРАНТ. URL: <http://ivo.garant.ru/#/document/12174909/paragraph/25019:2>. Дата обращения: 25.03.2019.
12. О наркотических средствах и психотропных веществах: Федеральный закон от 8 января 1998 г. № 3-ФЗ // Система ГАРАНТ. URL: <http://ivo.garant.ru/#/document/12107402/paragraph/211786:4>. Дата обращения: 25.03.2019.
6. World Health Organization, 2012. Development of Paediatric Medicines: Points to Consider in Formulation. Retrieved Nov 15, 2019 from <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19833en/s19833en.pdf>.
7. Belyatskaya A.V., Krasnyuk I.I., Krasnyuk I.I. (jr.) (2017). The use of medical drugs in the manufacture of extemporaneous powders. *Drug Development and Registration*, 1 (18), 82–85.
8. Moroz T.L., Ryzhova O.A. (2015). Problems of drug provision for prevention and treatment due to a reduction of intra-pharmacy preparation of medicines. *Remedium*, 1–2, 43–46.
9. Egorova S.N., Nevolina E.V. (2013). Preparation of medicines in pharmacy: issues requiring a legal solution. *Bulletin of Federal Service for Surveillance in Healthcare*, 6, 36–38.
10. On approval of the rules for the manufacture and dispensing of medicines for medical use by pharmacy organizations, individual entrepreneurs licensed for pharmaceutical activity: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of October 26, 2015 No. 751n. GARANT System. Retrieved March 25, 2019 from <http://base.garant.ru/71385104/8a92ded1be63b3a1049eb96ded1cc15/>.
11. On the circulation of medicines: Federal Law of April 12, 2010 No. 61-FZ. GARANT System. Retrieved March 25, 2019 from <http://ivo.garant.ru/#/document/12174909/paragraph/25019:2>.
12. On narcotic drugs and psychotropic substances: Federal Law of January 8, 1998 No. 3-FZ. GARANT System. Retrieved March 25 from <http://ivo.garant.ru/#/document/12107402/paragraph/211786:4>.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Наркевич Игорь Анатольевич** — д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой управления и экономики фармации, ректор ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

**Немятых Оксана Дмитриевна** — д-р фармацевт. наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

**Медведева Дарья Михайловна** — ассистент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

**Смехова Ирина Евгеньевна** — д-р фармацевт. наук, профессор кафедры технологии и лекарственных форм ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

## ABOUT THE AUTHORS

**Narkevich Igor Anatolyevich** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmacy Management and Economics, Rector, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Nemyatykh Oksana Dmitrievna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Professor, Department of Pharmacy Management and Economics, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Medvedeva Darya Mikhaylovna** — Assistant, Department of Pharmacy Management and Economics, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Smekhova Irina Evgenyevna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Department of Technology and Dosage Forms, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Ladutko Juliya Mikhaylovna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Technology and Dosage Forms, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Strelkov Stanislav Viktorovich** — Senior Lecturer, Department of Pharmacy Management and Economics, St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University.

**Citation example:** Narkevich I.A., Nemyatykh O.D., Medvedeva D.M., Smekhova I.E., Ladutko Yu.M., Strelkov S.V. (2020). Organizational and pharmaceutical

**Ладутько Юлия Михайловна** — д-р фармацевт. наук, доцент кафедры технологии и лекарственных форм ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

**Стрелков Станислав Викторович** — старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Наркевич И.А., Немяных О.Д., Медведева Д.М., Смехова И.Е., Ладутько Ю.М., Стрелков С.В. Организационно-фармацевтические аспекты совершенствования лекарственного обеспечения детей (на примере Санкт-Петербурга) // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020. № 1. С. 31–43.

aspects of improving medicinal provision of children (on the example of St. Petersburg). *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 31–43.



## Растительные фенольные соединения в профилактике метаболических нарушений при интоксикации оксидами азота в эксперименте

Другова Е.С.<sup>1</sup>, Кушнерова Н.Ф.<sup>1</sup>, Мерзляков В.Ю.<sup>1</sup>, Фоменко С.Е.<sup>1</sup>, Спрыгин В.Г.<sup>1</sup>, Момот Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток)

<sup>2</sup>ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Владивосток)

## Plant phenolic compounds in prevention of metabolic disturbances during nitrogen oxides intoxication in experiment

Drugova E.S.<sup>1</sup>, Kushnerova N.F.<sup>1</sup>, Merzlyakov V.Yu.<sup>1</sup>, Fomenko S.E.<sup>1</sup>, Sprygin V.G.<sup>1</sup>, Momot T.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok)

<sup>2</sup>Far Eastern Federal University (Vladivostok)

### АННОТАЦИЯ

Эксперимент, в ходе которого изучали влияние профилактического введения экстрактов калины и элеутерококка на биохимические показатели крови при интоксикации оксидами азота, проводили на 80 крысах линии «Вистар». Животные были разделены на 4 группы: 1-я — интактные, 2-я — интоксикация оксидами азота, 3-я — экстракт калины + оксиды азота, 4-я — экстракт элеутерококка + оксиды азота. Интоксикацию оксидами азота осуществляли в течение 6 мин в концентрации 4.3 мг/м<sup>3</sup> (предельно допустимая концентрация в атмосферном воздухе — 0.4 мг/м<sup>3</sup>). Интоксикация сопровождалась истощением системы антиоксидантной защиты организма, развитием выраженной дислипопроteinемии и дислипидемии. Выживаемость животных при интоксикации и введении экстрактов калины и элеутерококка составила 70 %, тогда как при интоксикации без профилактического приема препаратов — 40 %.

Таким образом, профилактический прием экстрактов калины и элеутерококка может быть рекомендован жителям экологически неблагоприятных регионов для снижения последствий техногенного воздействия.

**Ключевые слова:** оксиды азота, кровь, антиоксидантная защита, липопротеины, липиды, экстракт калины, экстракт элеутерококка.

### ABSTRACT

An experiment, aimed at studying the influence of prophylactic administration of viburnum and eleutherococcus extracts on biochemical parameters of blood during nitrogen oxides intoxication, was performed on 80 Wistar rats. The animals were divided into 4 groups: 1<sup>st</sup> — intact, 2<sup>nd</sup> — nitrogen oxides intoxication, 3<sup>rd</sup> — viburnum extract + nitrogen oxides, 4<sup>th</sup> — eleutherococcus extract + nitrogen oxides. Nitrogen oxides intoxication was executed for 6 min at a concentration of 4.3 mg/m<sup>3</sup> (the maximum permissible concentration in atmospheric air — 0.4 mg/m<sup>3</sup>). Intoxication was accompanied by depletion of the body's antioxidant defense system, development of severe dyslipoproteinemia and dyslipidemia. The survival rate of animals during intoxication preceded by administration of viburnum and eleutherococcus extracts was 70%, while during intoxication without prophylactic administration of drugs — 40%.

Thus, the prophylactic intake of viburnum and eleutherococcus extracts can be recommended to residents of ecologically unfavorable regions to reduce the effects of anthropogenic impact.

**Keywords:** nitrogen oxides, blood, antioxidant defense, lipoproteins, lipids, viburnum extract, eleutherococcus extract.

Поступила 03.09.2019  
Принята 12.10.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Другова Елена Сергеевна: ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН. 690041, г. Владивосток, ул. Балтийская, 43.  
E-mail: dryg-2005.84@mail.ru

Received 03.09.2019  
Accepted 12.10.2019

\*Corresponding author  
Drugova Elena Sergeevna: I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, 43, Baltiyskaya Str., Vladivostok, 690041. Russia.  
E-mail: dryg-2005.84@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

В связи с интенсивным развитием промышленности, автотранспорта, энергетики существенно обострилась проблема влияния химических соединений на здоровье человека. На сегодняшний день одним из источников загрязнения атмосферного воздуха оксидами азота являются тепловые электрические станции. Во время работы теплоэнергетических объектов при высоких температурах в котлах происходит частичное окисление азота воздуха и азота топлива с образованием оксида и диоксида азота [1]. Также эти химические токсиканты образуются при высокой температуре (свыше 1300 °С) и высоком давлении в камере сгорания двигателя при сжигании моторного, авиационного и ракетного топлива (применяются в качестве окислителей) [2].

Активной формой оксидов азота являются нитроксильные радикалы. В организм человека они попадают ингаляционным путем, с водой и пищей. При вдыхании паров этих веществ происходит активация свободнорадикальных реакций, пероксидация липидов, нарушение детоксикационной функции печени, развитие тканевой гипоксии, снижение содержания эритроцитов, повышение их объема, увеличение проницаемости мембран [3]. Эти соединения относятся к классу высокоопасных химических веществ, при действии которых человек испытывает химический стресс. Следовательно, проживание людей в зонах риска техногенных катастроф и в экологически неблагоприятных регионах обуславливает необходимость фармакологической профилактики нарушений здоровья. Одним из способов является применение препаратов растительного происхождения, обогащенных фенольными соединениями, которые обладают способностью тормозить свободнорадикальные реакции. К таким препаратам относится аптечный «Экстракт элеутерококка», содержащий в качестве действующего начала мономерные фенольные соединения, обладающие защитным эффектом при токсическом воздействии различных химических агентов (кадмий, свинец и др.) [4]. Однако использование корней и семян приводит к катастрофическому снижению запасов этого растения.

Ранее нами были опубликованы данные, свидетельствующие о широком спектре биологической активности экстрактов, выделенных из отходов переработки дикорастущего ягодного сырья (оси соцветий, кожица, косточки, семена и другие, составляющие отжим после отделения сока) Уссурийской тайги, благодаря прояв-

## INTRODUCTION

Resulting from the intensive development of industry, vehicles, and energy, the problem of influence of chemical compounds on human health has become much more significant. Today one of the sources of air pollution by nitrogen oxides are thermal power stations. During operation of heat and power facilities at high temperatures, partial oxidation of air nitrogen and fuel nitrogen occurs in boilers with the formation of nitrogen oxide and dioxide [1]. Also these chemical toxicants are formed at high temperature (above 1300°C) and high pressure in the compression chamber during the combustion of motor, aviation and rocket fuel (and are used as oxidizing agents) [2].

The active form of nitrogen oxides are nitroxide radicals. They enter the human body by inhalation, with water and food. On inhalation of the vapors of these substances free radical reactions are activated, then lipid peroxidation, disturbance of the liver detoxification function, tissue hypoxia, decrease in the content of red blood cells and increase in their volume as well as in their membranes permeability take place [3]. These compounds belong to the class of highly hazardous chemicals under the influence of which a person experiences chemical stress. It means that people living in areas at risk of technological disasters and in ecologically unfavorable regions necessitate pharmacological prevention of health disorders. One of the methods is the use of herbal preparations enriched in phenolic compounds which have the ability to inhibit free radical reactions. Such preparations include the officinal *Eleutherococcus* extract containing monomeric phenolic compounds as an active principle which has a protective effect in case of toxic impact of various chemical agents (cadmium, lead etc.) [4]. However, the use of roots and seeds leads to a catastrophic decline in stocks of this plant.

Earlier, we published data indicating a broad spectrum of biological activity of extracts received from waste products of the processing of wild berry raw materials (axes of inflorescences, skin, kernels, seeds, and others that make up the extract after juice separation) of the Ussuri taiga, due to their antioxidant and anti-free radical properties [5]. It was shown that under the conditions of experimental models of various intoxications (carbon tetrachloride, carbon disulfide, acetone etc.), a marked prophylactic effect of extracts of pressed viburnum, Amur grape, Chinese magnolia vine, European mountain ash, Manchurian aralia, edible honeysuckle was noted. Based on the screening, we selected for this experiment an extract from the

лению ими антиоксидантных и антирадикальных свойств [5]. Было показано, что в условиях экспериментальных моделей различных интоксикаций (четырёххлористый углерод, сероуглерод, ацетон и др.) отмечалось выраженное профилактическое действие экстрактов отжима калины, винограда Амурского, лимонника китайского, рябины обыкновенной, аралии маньчжурской, жимолости съедобной. На основании проведенного скрининга нами был выбран для проведения данного эксперимента экстракт из отжима ягод калины Саржента (*Viburnum sargentii* Koehne), запатентованный как гепатопротекторное средство (патент RU № 2199249, ТУ 9168-079-00480052-07) и как экстракт калины, обладающий антирадикальной активностью (патент RU № 2220614). Химический состав препарата был исследован с помощью жидкостного хроматографа Controller LCC-500 (Pharmacia). Это водно-спиртовой (40 %) экстракт, который представляет собой композицию различных классов веществ, среди которых фенольные соединения составляют свыше 60 % сухого остатка экстракта (олигомерные проантоцианидины, катехины и их полимерные формы, лигнин, флавонолы и др.) [6]. В качестве препарата сравнения использовали аптечный «Экстракт элеутерококка», защитное действие которого при гипоксии связывают с регулирующим влиянием на углеводный и липидный обмен [7]. Таким образом, применение препаратов, осуществляющих антиоксидантную защиту мембранных структур при различных видах токсического воздействия, является важным этапом системы профилактики.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния профилактического введения экстрактов калины и элеутерококка на биохимические показатели крови крыс при интоксикации оксидами азота.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на 80 крысах линии «Вистар» массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Для интоксикации оксидами азота животных помещали в специальную затравочную камеру, сконструированную по типу камер Б.А. Курляндского, с автономной системой очистки и регенерации воздуха, заданными параметрами температуры (20–22 °C) и влажности воздуха (40–60 %) [8]. Животные были разделены на 4 группы по 20 крыс в каждой: 1-я группа (контроль) — интактные животные; 2-я — интоксикация оксидами азота в кон-

pressed berries of Sargent viburnum (*Viburnum sargentii* Koehne), patented as a hepatoprotective agent (patent RU No. 2199249, technical condition 9168-079-00480052-07) and as a viburnum extract with anti-free radical activity (patent RU No. 2220614). The chemical composition of the drug was studied using a liquid chromatograph Controller LCC-500 (Pharmacia). This is an aqueous-alcoholic (40%) extract which is a composition of various classes of substances, among which phenolic compounds make up more than 60% of the dry residue of the preparation (oligomeric proanthocyanidins, catechins and their polymeric forms, lignin, flavonols etc.) [6]. As a comparison drug the officinal eleutherococcus extract was used, the protective effect of which in hypoxia is associated with a regulatory influence on carbohydrate and lipid metabolism [7]. Thus, the use of drugs providing antioxidant defense of membrane structures for various types of toxic effects is an important stage of the prevention system.

## AIM OF THE RESEARCH

Studying the influence of the prophylactic administration of viburnum and eleutherococcus extracts on the biochemical parameters of rat blood during nitrogen oxides intoxication.

## MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed on 80 Wistar rats weighting 180–200 g, kept in standard vivarium conditions. For nitrogen oxides intoxication animals were placed into a special exposure chamber designed according to the type of B.A. Kurlyandsky's chambers with self-contained air purification and regeneration system with preset parameters of temperature (20–22°C) and air humidity (40–60%) [8]. The animals were divided into 4 groups of 20 rats each: 1<sup>st</sup> group (control) — intact animals; 2<sup>nd</sup> — nitrogen oxides intoxication at a concentration of 4.3 mg/m<sup>3</sup> (the maximum permissible concentration in atmospheric air is 0.4 mg/m<sup>3</sup>), the exposure time being 6 min; 3<sup>rd</sup> group — viburnum extract + nitrogen oxides; 4<sup>th</sup> group — Eleutherococcus extract + nitrogen oxides. In the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> groups the prophylactic effect of the viburnum and eleutherococcus extracts was studied by administering these extracts to animals for 14 days before nitrogen oxides intoxication. The experiment design was borrowed from the work of Yu.A. Rakhmanin et al. [9], that is the experiment simulated an intoxication in a man-made disaster with a massive release of nitrogen oxides. Rats were removed from the experiment by decapitation under brief

центрации 4.3 мг/м<sup>3</sup> (предельно допустимая концентрация в атмосферном воздухе составляет 0.4 мг/м<sup>3</sup>), экспозиция 6 мин; 3-я группа — экстракт калины + оксиды азота; 4-я группа — экстракт элеутерококка + оксиды азота. В 3-й и 4-й группах было изучено профилактическое действие экстракта калины и элеутерококка путем введения этих экстрактов животным в течение 14 сут до интоксикации оксидами азота. Схема эксперимента заимствована из работы Ю.А. Рахманина и соавт. [9], т. е. в эксперименте была смоделирована интоксикация при техногенной катастрофе с массивным выбросом оксидов азота. Крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом через 60 мин после экспозиции оксидами азота с соблюдением «Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Водные растворы сухого остатка экстракта калины и элеутерококка (предварительно освобожденные от спирта экстракты путем упаривания в вакууме) вводили внутривенно через зонд в дозе 100 мг общих фенолов/кг массы тела [10]. Состояние антиоксидантной системы оценивали по величине активности супероксиддисмутазы (СОД) (код фермента (КФ) 1.15.1.1), уровню восстановленного глутатиона и малонового диальдегида (МДА) [11]. Активность β-галактозидазы (КФ 3.2.1.23) определяли по методу А.А. Покровского [12], активность аланинаминотрансферазы (АЛАТ) (КФ 2.6.1.2) — с помощью стандартных наборов Bio-la-test фирмы Pliva-Lachema Diagnostika S.R.O. (Чехия). Определение содержания окисленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>) проводили по методу [13]; суммарное содержание липопротеинов очень низкой и низкой плотности, а также липопротеинов высокой плотности — по методу [14]. Количество общих фосфолипидов в экстрактах устанавливали методом V.E. Vaskovsky et al. [15]; количество общего холестерина — методом одномерной микротонкослойной хроматографии [16].

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили с использованием статистического пакета InStat 3.0 (GraphPad Software Inc., США, 2005) с функцией проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий для межгрупповых сравнений в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-тест

ether anesthesia 60 min after exposure to nitrogen oxides in compliance with the Rules and International Recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and for Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). Aqueous solutions of the dry residue of the viburnum and eleutherococcus extracts (previously freed from alcohol by evaporation in vacuo) were administered intragastrically through a catheter at a dose of 100 mg of total phenols / kg of body weight [10]. The state of the antioxidant system was evaluated by the activity of superoxide dismutase (SOD) (Enzyme Commission number (EC number) 1.15.1.1), the level of reduced glutathione and malondialdehyde (MDA) [11]. The activity of β-galactosidase (EC number 3.2.1.23) was determined by the method of A.A. Pokrovsky [12], the activity of alanine aminotransferase (ALAT) (EC number 2.6.1.2) — using standard Bio-la-test kits (Pliva-Lachema Diagnostika S.R.O., Czech). The content of the oxidized form of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) was evaluated according to the method [13]; the total content of very low and low density lipoproteins, as well as high density lipoproteins — according to the method [14]. The amount of total phospholipids in the extracts was determined by method of V.E. Vaskovsky et al. [15]; the amount of total cholesterol was determined by the method of one-dimensional micro-thin-layer chromatography [16].

Statistical processing of the results of experimental studies was performed using the statistical package InStat 3.0 (GraphPad Software Inc., USA, 2005) with the function of verifying the compliance of the sample with the normal distribution law. To determine the statistical significance of the differences for intergroup comparisons depending on the distribution parameters the Dunnett parametric *t*-test of multiple comparisons, the non-parametric Mann-Whitney *U*-test, and the Student *t*-test were used. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . The study was approved by the Ethics Committee of the V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute.

## RESULTS AND DISCUSSION

The survival rate of animals after nitrogen oxides intoxication was 40% ( $p < 0.001$ ). Assessment of the rat blood biochemical parameters showed an increase in ALAT activity by 6 times ( $p < 0.001$ ) that indicates an increase in the permeability of hepatocyte membranes and the release of the enzyme into the blood (the Table). The activity of the lysosomal cytosolic enzyme β-galactosidase increased by 37%

множественных сравнений Даннета, непараметрический *U*-критерий Манна — Уитни, а также *t*-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выживаемость животных после интоксикации оксидами азота составляла 40 % ( $p < 0.001$ ). Изучение биохимических показателей крови крыс показало увеличение активности АЛАТ в 6 раз ( $p < 0.001$ ), что свидетельствует о повышении проницаемости мембран гепатоцитов и выходе фермента в кровь (таблица). Активность цитозольного фермента лизосом  $\beta$ -галактозидазы возросла на 37 % ( $p < 0.001$ ), количество окисленной формы НАД<sup>+</sup> снизилось на 56 % ( $p < 0.05$ ). Активность СОД уменьшилась на 57 % ( $p < 0.001$ ), а величина восстановленного глутатиона (Г-SH) — на 45 % ( $p < 0.001$ ), что говорит об истощении системы антиоксидантной защиты. Это подтверждается ростом величины малонового диальдегида на 62 % ( $p < 0.001$ ), характеризующего перекисное окисление липидов. В липидной фракции сыворотки крови отмечалось снижение общих фосфолипидов на 40 % ( $p < 0.001$ ), тогда как количество общего холестерина увеличилось на 28 % ( $p < 0.001$ ). В связи с этим коэффициент холестерин/фосфолипиды вырос в 2 раза. Также были выявлены изменения в соотношении липопротеинов сыворотки крови: содержание суммарной фракции липопротеинов очень низкой и низкой плотности увеличилось на 59 % ( $p < 0.001$ ), липопротеинов высокой плотности уменьшилось на 24 % ( $p < 0.001$ ), т. е. интоксикация оксидами азота сопровождается развитием дислипидемии и дислипопротеинемии.

При профилактическом введении экстракта калины или элеутерококка в течение 14 сут до интоксикации оксидами азота выживаемость животных после интоксикации составляла 70%. Профилактическое введение экстрактов до интоксикации полностью не нейтрализовывало токсическое воздействие на организм экспериментальных животных, однако способствовало достоверному восстановлению изученных показателей крови. В то же время степень выраженности восстановительного эффекта различалась в зависимости от вида экстракта.

При введении экстракта калины активность АЛАТ сыворотки крови увеличивалась относительно группы контроля в 2.3 раза

( $p < 0.001$ ), the amount of the NAD<sup>+</sup> oxidized form decreased by 56% ( $p < 0.05$ ). SOD activity decreased by 57% ( $p < 0.001$ ) and the amount of reduced glutathione (G-SH) decreased by 45% ( $p < 0.001$ ) that indicates the depletion of the antioxidant defense system. This is confirmed by an increase in malondialdehyde by 62% ( $p < 0.001$ ) which characterizes lipid peroxidation. In the lipid fraction of blood serum the 40% ( $p < 0.001$ ) decrease in total phospholipids was noted, while the amount of total cholesterol increased by 28% ( $p < 0.001$ ). In this regard the cholesterol/phospholipids quotient increased by 2 times. Changes in the ratio of serum lipoproteins were also revealed: the content of the total fraction of very low and low density lipoproteins increased by 59% ( $p < 0.001$ ), high density lipoproteins decreased by 24% ( $p < 0.001$ ), i.e. intoxication with nitrogen oxides is accompanied by the development of dyslipidemia and dyslipoproteinemia.

With the prophylactic administration of an extract of viburnum or eleutherococcus within 14 days before intoxication with nitrogen oxides, the survival rate of animals after intoxication was 70%. The prophylactic administration of extracts before intoxication did not completely neutralize the toxic effects in experimental animals, however, it contributed to a significant restoration of the studied blood values. At the same time, the intensity of the recovery effect varied depending on the extract type.

With administration of the viburnum extract, the activity of serum ALAT increased in relation to the control group by 2.3 times ( $p < 0.001$ ), and with administration of the eleutherococcus extract, it increased by 3.5 times ( $p < 0.001$ ). When comparing these values with those of the 2<sup>nd</sup> group (nitrogen oxides), the activity of ALAT decreased by 45% ( $p < 0.001$ ) in case of viburnum, and in case of eleutherococcus — by 25% ( $p < 0.001$ ).

The activity of  $\beta$ -galactosidase upon administration of the viburnum extract was higher than in the control group by 18% ( $p < 0.01$ ), and upon the eleutherococcus administration — by 23% ( $p < 0.001$ ). Compared with the 2<sup>nd</sup> group,  $\beta$ -galactosidase activity in the 3<sup>rd</sup> group decreased by 14% ( $p < 0.01$ ), and in the 4<sup>th</sup> group — by 10% ( $p < 0.05$ ). The content of NAD<sup>+</sup> in the rat blood upon administration of the extract of viburnum was 31% ( $p < 0.05$ ) less than in the control group, and upon administration of eleutherococcus — 37% ( $p < 0.001$ ) less. When comparing the values of NAD<sup>+</sup> with those of the 2<sup>nd</sup> group, its increase was 57% ( $p < 0.05$ ) with introduction of the viburnum extract, and 43% ( $p < 0.05$ ) with introduction of

Биохимические показатели крови крыс при интоксикации оксидами азота и профилактическом введении растительных экстрактов ( $M \pm m$ )

Biochemical parameters of rat blood during nitrogen oxides intoxication and prophylactic administration of plant extracts ( $M \pm m$ )

Показатели / Parameters	1-я группа (контроль) 1 <sup>st</sup> group (control)	2-я группа (оксиды азота) 2 <sup>nd</sup> group (nitrogen oxides)	3-я группа (экстракт калины + оксиды азота) 3 <sup>rd</sup> group (viburnum extract + nitrogen oxides)	4-я группа (элеутерококк + оксиды азота) 4 <sup>th</sup> group (eleutherococcus + nitrogen oxides)
АЛАТ (мкмоль/мл · ч) AlAT ( $\mu\text{mol/ml} \cdot \text{h}$ )	0.69 $\pm$ 0.05	4.14 $\pm$ 0.07 <sup>3</sup>	2.26 $\pm$ 0.06 <sup>3, B</sup>	3.11 $\pm$ 0.06 <sup>3, B</sup>
$\beta$ -галактозидаза (нмоль/мл · мин) $\beta$ -galactosidase ( $\text{nmol/ml} \cdot \text{min}$ )	5.78 $\pm$ 0.19	7.92 $\pm$ 0.34 <sup>3</sup>	6.83 $\pm$ 0.21 <sup>2, 6</sup>	7.12 $\pm$ 0.20 <sup>3, a</sup>
НАД <sup>+</sup> (мкмоль/л) / NAD <sup>+</sup> ( $\mu\text{mol/l}$ )	0.16 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>3</sup>	0.11 $\pm$ 0.02 <sup>1, a</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>3, a</sup>
СОД (ед./мг гемоглобина) SOD (U/mg of hemoglobin)	13.27 $\pm$ 0.69	5.74 $\pm$ 0.35 <sup>3</sup>	10.24 $\pm$ 0.47 <sup>2, B</sup>	9.22 $\pm$ 0.42 <sup>3, B</sup>
G-SH (нмоль/мг белка) G-SH ( $\text{nmol/mg of protein}$ )	1.82 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.03 <sup>3</sup>	1.30 $\pm$ 0.04 <sup>3, B</sup>	1.12 $\pm$ 0.03 <sup>3, 6</sup>
МДА (мкмоль/мл) / MDA ( $\mu\text{mol/ml}$ )	6.32 $\pm$ 0.20	10.24 $\pm$ 0.30 <sup>3</sup>	7.69 $\pm$ 0.23 <sup>3, B</sup>	7.88 $\pm$ 0.22 <sup>3, B</sup>
Общие фосфолипиды (% от общих липидов) Total phospholipids (% of total lipids)	16.00 $\pm$ 0.53	9.58 $\pm$ 0.61 <sup>3</sup>	13.56 $\pm$ 0.50 <sup>2, B</sup>	12.60 $\pm$ 0.48 <sup>3, 6</sup>
Общий холестерин (% от общих липидов) Total cholesterol (% of total lipids)	14.90 $\pm$ 0.54	19.00 $\pm$ 0.51 <sup>3</sup>	16.48 $\pm$ 0.50 <sup>1, 6</sup>	17.20 $\pm$ 0.54 <sup>2, a</sup>
Холестерин/фосфолипиды Cholesterol / Phospholipids	0.93 $\pm$ 0.03	1.98 $\pm$ 0.05 <sup>3</sup>	1.22 $\pm$ 0.05 <sup>3, B</sup>	1.37 $\pm$ 0.04 <sup>3, B</sup>
ЛПОНП + ЛПНП (г/л) VLDL + LDL (g/l)	3.82 $\pm$ 0.13	5.97 $\pm$ 0.15 <sup>3</sup>	4.64 $\pm$ 0.12 <sup>3, B</sup>	5.00 $\pm$ 0.14 <sup>3, B</sup>
ЛПВП (г/л) / HDL (g/l)	3.22 $\pm$ 0.10	2.42 $\pm$ 0.09 <sup>3</sup>	2.89 $\pm$ 0.08 <sup>1, 6</sup>	2.73 $\pm$ 0.07 <sup>3, a</sup>

Примечание. Различия статистически значимы: <sup>1</sup> при  $p < 0.05$ , <sup>2</sup>  $p < 0.01$ , <sup>3</sup>  $p < 0.001$  по сравнению с контролем; <sup>a</sup>  $p < 0.05$ , <sup>6</sup>  $p < 0.01$ , <sup>b</sup>  $p < 0.001$  по сравнению со 2-й группой; ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПВП – липопротеины высокой плотности.

Note. The differences are statistically significant: <sup>1</sup> in  $p < 0.05$ , <sup>2</sup>  $p < 0.01$ , <sup>3</sup>  $p < 0.001$  in comparison with the control; <sup>a</sup>  $p < 0.05$ , <sup>b</sup>  $p < 0.01$ , <sup>c</sup>  $p < 0.001$  in comparison with the 2<sup>nd</sup> group; VLDL – very low density lipoproteins, LDL – low density lipoproteins, HDL – high density lipoproteins.

( $p < 0.001$ ), а при введении элеутерококка – в 3.5 раза ( $p < 0.001$ ). При сравнении этих величин с таковой во 2-й группе (оксиды азота) активность АЛАТ снизилась на 45 % ( $p < 0.001$ ) при введении экстракта калины, а при введении элеутерококка – на 25 % ( $p < 0.001$ ).

Активность  $\beta$ -галактозидазы при введении экстракта калины была выше, чем в контрольной группе, на 18 % ( $p < 0.01$ ), а при введении элеутерококка – на 23 % ( $p < 0.001$ ). По сравнению со 2-й группой активность  $\beta$ -галактозидазы в 3-й группе снизилась на 14 % ( $p < 0.01$ ), а в 4-й группе – на 10 % ( $p < 0.05$ ). Содержание НАД<sup>+</sup> в крови крыс при введении экстракта калины было на 31 % ( $p < 0.05$ ) меньше, чем в группе контроля, а при введении элеутерококка – на 37 % ( $p < 0.001$ ). При сравнении значения НАД<sup>+</sup> с таковым во 2-й группе отмечалось его увеличение при введении экстракта калины на 57 %

the eleutherococcus. The activity of SOD in the rat blood of the 3<sup>rd</sup> group was 23% ( $p < 0.01$ ), while in the 4<sup>th</sup> group it was 31% ( $p < 0.001$ ) lower than in the control group. At the same time, when comparing these values with those in the 2<sup>nd</sup> group, the activity of SOD with administration of the viburnum extract was higher by 78% ( $p < 0.001$ ) and with that of eleutherococcus – by 61% ( $p < 0.001$ ).

The G-SH value in the rat blood of the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> groups was lower than in the control group by 29–30% ( $p < 0.001$ ) on average, while its value increased as compared to the 2<sup>nd</sup> group: with administration of the viburnum extract – by 30% ( $p < 0.001$ ), of the eleutherococcus – by 12% ( $p < 0.01$ ). With prophylactic administration of both extracts the content of malondialdehyde in the blood of rats in relation to the control group was higher by 22–25% ( $p < 0.001$ ) on average, and with regard to the 2<sup>nd</sup> group – by 23–25% ( $p < 0.001$ ) on

( $p < 0.05$ ), а при введении элеутерококка — на 43 % ( $p < 0.05$ ). Активность СОД в крови крыс 3-й группы была на 23 % ( $p < 0.01$ ) ниже, чем в группе контроля, тогда как в 4-й группе — на 31 % ( $p < 0.001$ ). В то же время при сравнении этих величин с таковыми во 2-й группе активность СОД при введении экстракта калины была выше на 78 % ( $p < 0.001$ ), а при введении элеутерококка — на 61 % ( $p < 0.001$ ).

Значение Г-SH в крови крыс 3-й и 4-й групп было ниже, чем в группе контроля, в среднем на 29–30 % ( $p < 0.001$ ), тогда как по сравнению со 2-й группой его значение возросло: при введении экстракта калины — на 30 % ( $p < 0.001$ ), элеутерококка — на 12 % ( $p < 0.01$ ). При профилактическом введении обоих экстрактов содержание малонового диальдегида в крови крыс относительно группы контроля было выше в среднем на 22–25 % ( $p < 0.001$ ), а относительно 2-й группы — в среднем на 23–25 % ( $p < 0.001$ ). Количество общих фосфолипидов в сыворотке крови крыс при введении экстракта калины было ниже, чем в группе контроля, на 15 % ( $p < 0.01$ ), при введении элеутерококка — на 21 % ( $p < 0.001$ ), а по сравнению со 2-й группой данная величина в 3-й группе была выше на 42 % ( $p < 0.01$ ), в 4-й группе — на 32 % ( $p < 0.01$ ).

При сравнении величины общего холестерина в сыворотке крови крыс 3-й группы (экстракт калины) с таковой в группе контроля отмечалось ее увеличение на 11 % ( $p < 0.05$ ), а в 4-й группе — на 15 % ( $p < 0.01$ ). В то же время при сравнении этих величин с таковой во 2-й группе количество холестерина при введении экстракта калины снизилось на 13 % ( $p < 0.05$ ), а при введении элеутерококка — на 10 % ( $p < 0.01$ ). Значение коэффициента холестерин/фосфолипиды в 3-й группе было на 31 % ( $p < 0.001$ ) выше, чем в группе контроля, тогда как в 4-й группе — на 47 % ( $p < 0.001$ ). По сравнению со 2-й группой значение коэффициента снизилось при введении экстракта калины на 38 % ( $p < 0.001$ ), а при введении элеутерококка — на 31 % ( $p < 0.001$ ). Значение суммарной фракции липопротеины очень низкой плотности + липопротеины низкой плотности (ЛПОНП + ЛПНП) в 3-й группе было выше, чем в группе контроля, на 21 % ( $p < 0.001$ ), а в 4-й группе — на 31 % ( $p < 0.001$ ), при одновременном снижении содержания липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в 3-й группе на 10 % ( $p < 0.05$ ), а в 4-й — на 15 % ( $p < 0.001$ ). При сравнении этих величин с таковыми во 2-й группе (оксиды азота) отмечалось снижение ЛПОНП + ЛПНП на 22 %

average. The amount of total phospholipids in the blood serum of rats with administration of the viburnum extract was lower than in the control group by 15% ( $p < 0.01$ ), with that of eleutherococcus — by 21% ( $p < 0.001$ ); and in comparison with the 2<sup>nd</sup> group, this value in the 3<sup>rd</sup> group was higher by 42% ( $p < 0.01$ ), in the 4<sup>th</sup> group — by 32% ( $p < 0.01$ ).

When comparing the total cholesterol value in the rat blood serum of the 3<sup>rd</sup> group (viburnum extract) with that of the control group, we noted its increase by 11% ( $p < 0.05$ ), and in the 4<sup>th</sup> group — by 15% ( $p < 0.01$ ). At the same time, when comparing these values with those in the 2<sup>nd</sup> group, the amount of cholesterol decreased by 13% with the introduction of the viburnum extract ( $p < 0.05$ ) and with the introduction of eleutherococcus — by 10% ( $p < 0.01$ ). The cholesterol/phospholipid ratio in the 3<sup>rd</sup> group was 31% ( $p < 0.001$ ) higher than in the control group, while in the 4<sup>th</sup> group — 47% ( $p < 0.001$ ) higher. In comparison with the 2<sup>nd</sup> group, this coefficient value decreased with the administration of the viburnum extract by 38% ( $p < 0.001$ ) and with administration of eleutherococcus — by 31% ( $p < 0.001$ ). The value of the total fraction of very low density lipoproteins + low density lipoproteins (VLDL + LDL) in the 3<sup>rd</sup> group was higher than in the control group by 21% ( $p < 0.001$ ) and in the 4<sup>th</sup> group — by 31% ( $p < 0.001$ ), while reducing the content of high density lipoproteins (HDL) in the 3<sup>rd</sup> group by 10% ( $p < 0.05$ ) and in the 4<sup>th</sup> — by 15% ( $p < 0.001$ ). When comparing these values with those in the 2<sup>nd</sup> group (nitrogen oxides), we noted a decrease in VLDL + LDL by 22% ( $p < 0.001$ ) with administration of the viburnum extract and by 16% ( $p < 0.001$ ) with administration of eleutherococcus, while the HDL content in the 3<sup>rd</sup> group was higher than in the 2<sup>nd</sup> one by 19% ( $p < 0.01$ ) and in the 4<sup>th</sup> group — by 13% ( $p < 0.05$ ).

Nitrogen oxides intoxication (chemical stress) was accompanied by a significant increase in ALAT activity (5–6 times). Since the increase in this enzyme activity in the blood indicates an increase in the permeability of hepatocyte membranes and the escape of the enzyme into the blood, this means that the chemical stress causes a damage to the liver which plays a key role in vital processes of the body, such as detoxification, carbohydrate, lipid, energy metabolism etc. The confirmation of an increased membrane permeability is a rise in the activity of the cytosolic enzyme of lysosomes  $\beta$ -galactosidase in blood serum. A decrease in the amount of total phospholipids and an increase in total cholesterol led to changes in the ratio of lipoproteins: levels of

( $p < 0.001$ ) при введении экстракта калины и на 16 % ( $p < 0.001$ ) при введении элеутерококка, при этом содержание ЛПВП в 3-й группе было выше, чем во 2-й группе, на 19 % ( $p < 0.01$ ), а в 4-й группе — на 13 % ( $p < 0.05$ ).

Интоксикация оксидами азота (химический стресс) сопровождалась значительным увеличением активности АлАТ (в 5–6 раз). Так как рост активности этого фермента в крови свидетельствует о повышении проницаемости мембран гепатоцитов и выходе фермента в кровь, это означает, что при химическом стрессе происходит поражение печени, которая играет ключевую роль в жизненно важных процессах организма, таких как детоксикация, углеводный, липидный, энергетический обмен и др. Подтверждением факта повышения проницаемости мембран является и увеличение активности в сыворотке крови цитозольного фермента лизосом  $\beta$ -галактозидазы. Снижение количества общих фосфолипидов и увеличение содержания общего холестерина обусловило изменения в соотношении липопротеинов: возросло содержание ЛПОНП + ЛПНП и уменьшилось — ЛПВП, т. е. развились дислипидемия и дислипопротеинемия. Такие изменения обусловлены угнетением активности лецитин-холестерин ацилтрансферазы (ЛХАТ), нарушением синтеза и катаболизма липопротеинов [17].

Анализируя изменения показателей системы антиоксидантной защиты, следует отметить, что проявлением метаболических расстройств при стрессе является ее напряжение и истощение. При воздействии оксидов азота отмечается истощение антиоксидантной системы (активность СОД уменьшилась на 57 %). Также отмечалось падение уровня Г-SH (на 45 %). Изменение антиоксидантного статуса обусловило активизацию перекисного окисления липидов, что привело к увеличению количества малонового диальдегида в крови крыс.

При профилактическом введении экстрактов калины и элеутерококка до интоксикации оксидами азота наблюдалась тенденция к устойчивому функционированию системы антиоксидантной защиты организма и восстановлению изученных биохимических показателей. Это, по-видимому, обусловило выживаемость животных до 70 %. Биохимическим механизмом данного феномена является способность фенольных соединений, входящих в состав экстрактов, улавливать свободные радикалы, тем самым нейтрализуя эффекты оксидативного стресса. Известно, что растительные фенольные соединения спо-

VLDL + LDL increased and HDL levels decreased, i.e., dyslipidemia and dyslipoproteinemia developed. Such changes are due to inhibition of the lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) activity, a disturbance of the synthesis and catabolism of lipoproteins [17]. When analyzing changes in the parameters of the antioxidant defense system, it should be mentioned that the manifestation of metabolic disorders during stress is its tension and exhaustion. Under exposure to nitrogen oxides, the depletion of the antioxidant system is noted (SOD activity decreased by 57%). There was also a decrease in the level of G-SH (by 45%). The change of antioxidant status led to the activation of lipid peroxidation process which resulted in some increase in the amount of malondialdehyde in the blood of rats.

With the prophylactic administration of the extracts of viburnum and eleutherococcus before nitrogen oxides intoxication, a tendency was observed towards the stable functioning of the body's antioxidant defense system and the restoration of the studied biochemical parameters. This, apparently, determined the survival rate of animals up to 70%. The biochemical mechanism of this phenomenon is the ability of phenolic compounds that make up the extracts to trap free radicals, thereby neutralizing the effects of oxidative stress. It is known that plant phenolic compounds contribute to the activation of the enzyme LCAT [18] which explains the possibility of dyslipidemia correction. As a comparison drug we used the eleutherococcus extract. Studies have shown that it had a lower pharmacological effect than the plant extract of viburnum used in the experiment. In our opinion, this is due to its phenolic compounds. It is known that the viburnum extract contains polyphenolic compounds, oligomeric proanthocyanidins in particular, which form a phenoxyl radical with higher stability than that formed from monomeric flavonoids [19]. The extract of eleutherococcus consists mainly of phenolic acids (monomeric compounds) which possibly determines their lesser activity. It is known that monomers (in particular epicatechin) are highly active only against the superoxide radical of oxygen but not against the other sometimes much more reactive radicals [20]. Therefore, the phenolic compounds of the viburnum extract demonstrate greater antioxidant properties than the comparison drug. The phenomenon of lowering of cholesterol ratio is explained by the fact that phenol molecules activate  $7\alpha$ -cholesterol hydroxylase, the enzyme which is involved in the oxidation of cholesterol to bile acids [21].

собствуют активации фермента ЛХАТ [18], что объясняет возможность коррекции дислипидемии. В качестве препарата сравнения нами был использован экстракт элеутерококка. Как показали исследования, он оказывал меньший фармакологический эффект, чем используемый в эксперименте растительный экстракт калины. По нашему мнению, это обусловлено входящими в его состав фенольными соединениями. Известно, что в состав экстракта калины входят полифенольные соединения, в частности олигомерные проантоцианидины, которые образуют феноксильный радикал с более высокой стабильностью, чем образующийся из мономерных флавоноидов [19]. В состав экстракта элеутерококка входят преимущественно фенольные кислоты (мономерные соединения), что, возможно, и обуславливает их меньшую активность. Известно, что мономеры (в частности эпикатехин) проявляют высокую активность только в отношении супероксид-радикала кислорода, но не в отношении остальных, подчас намного более активных радикалов [20]. Поэтому фенольные соединения, входящие в экстракт калины, демонстрируют антиоксидантные свойства в большей степени, чем препарат сравнения. Феномен снижения холестерина объясняется тем, что молекулы фенолов активируют фермент 7 $\alpha$ -холестерингидроксилазу, участвующий в окислении холестерина в желчные кислоты [21].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кавешникова С.В., Иванов В.М. Биохимические особенности крови крыс линии Вистар в постнатальном онтогенезе при интоксикации их оксидом азота // Вестн. Ставропольского гос. ун-та. 2011. № 3. С. 100–105.
2. Сидоров П.И., Совершаева С.Л., Скребцова Н.В. Медико-экологические аспекты здоровья населения на территориях ракетно-космической деятельности // Гигиена и санитария. 2006. № 3. С. 11–15.
3. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб., 2002. 395 с.
4. Горовая Н.Я., Плаксен Н.В., Устинова Л.В. Подтверждение эффективности и безопасности жидкого экстракта из листьев элеутерококка // Тихоокеанский мед. журн. 2015. № 2 (60). С. 66–68.
5. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. Отходы от переработки дальневосточных дикоросов — перспективные источники пищевых антиоксидантов // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2010. Т. 12, № 1–3. С. 812–815.
6. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф. Калина — новый нетрадиционный источник олигомерных проантоцианидинов // Химико-фармацевт. журн. 2004. Т. 38, № 2. С. 41–45.

## CONCLUSION

The use of plant extracts containing complexes of phenolic compounds is a promising direction for the prevention of metabolic disorders. Prophylactic supplementation with the extract of viburnum will allow to effectively deal with the consequences of the complex effects of chemical stress factors that indicates the advisability of using plant extracts for preventive purposes for people living in ecologically unfavorable regions.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение экстрактов растительного происхождения, содержащих комплексы фенольных соединений, является перспективным направлением для профилактики метаболических нарушений. Профилактический прием экстракта калины позволит эффективно бороться с последствиями комплексного воздействия химических стрессовых факторов, что свидетельствует о целесообразности применения растительных экстрактов в профилактических целях людям, проживающим в экологически неблагоприятных регионах.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## REFERENCES

1. Ivanov V.M., Kaveshnikova S.V. (2011). Biochemical features of the Wistar rats blood in postnatal ontogenesis during their nitrogen oxides intoxication. *Stavropol State University Bulletin*, 3, 100–105. In Russ.
2. Sidorov P.I., Skrebtsova N.V., Sovershaeva S.L. (2006). Medical and environmental aspects of public health in the areas of rocket and space activities. *Hygiene and Sanitation*, 3, 11–15. In Russ.
3. Kutsenko S.A. (2002). *Basics of Toxicology*. Saint-Petersburg, 395 p. In Russ.
4. Gorovaya N.Y., Plaksen N.V., Ustinova L.V. (2015). Proof of the efficacy and safety of the liquid extract from the leaves of Eleutherococcus. *Pacific Medical Journal*, 2 (60), 66–68.
5. Sprygina V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E. (2010). Waste from processing the Far-East wild-growing plants — perspective sources of nutritional antioxidants. *Izvestia of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 12 (1–3), 812–815.
6. Sprygina V.G., Kushnerova N.F. (2004). Viburnum is a new unconventional source of oligomeric proanthocyanidins. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2, 38, 41–45. In Russ.

7. Кушнерова Н.Ф., Кропотов А.В., Фоменко С.Е., Момот Т.В. Влияние интоксикации оксидами азота на состояние липидно-углеводного обмена печени и возможности фармакопрофилактики гепатозов // Тихоокеанский мед. журн. 2014. № 2 (56). С. 77–80.
8. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия) / под ред. И.В. Саноцкого. М.: Медицина, 1970. 344 с.
9. Рахманин Ю.А., Кропотов А.В., Кушнерова Н.Ф., Веселков О.В. Профилактическое влияние антигипоксанта амтизола при интоксикации оксидами азота // Гигиена и санитария. 1998. № 2. С. 34–37.
10. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатопротективных средств // Вестник фармацевт. комитета. 1999. № 2. С. 9–12.
11. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «Перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2003. 80 с.
12. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике. Справочник. М.: Медицина, 1969. 651 с.
13. Klingenberg M. Determination of NAD+ // Bergmeyer H.U. Methods of Enzymatic Analysis. Basel: Verlag Chemie, 1983. Vol. 7. P. 253–257.
14. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Изд. 2-е, перераб. и доп. Минск: Беларусь, 1982. 366 с.
15. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. 1975. Vol. 114 (1). P. 129–141.
16. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. 1964. Vol. 5 (2). P. 270–272.
17. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сиб. универ. изд-во, 2008. 284 с.
18. Гаскина Т.К., Курилович С.А., Горчаков В.Н. Изменение скорости лецитинхолестеролацилтрансферазной реакции и липидных показателей сыворотки крови под влиянием катергена в условиях острого экспериментального перерождения печени // Вопр. мед. химии. 1989. Т. 35, № 4. С. 24–28.
19. Bors W., Michel C., Stettmaier K. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters // Arch. Biochem. Biophys. 2000. Vol. 374 (2). P. 347–355.
20. Saija A., Scalese M., Lanza M. et al. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes // Free Radic. Biol. Med. 1995. Vol. 19 (4). P. 481–486.
21. Yang T.T., Koo M.W. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion // Life Sci. 2000. Vol. 66 (5). P. 411–423.
7. Kushnerova N.F., Kropotov A.V., Fomenko S.E., Momot T.V. (2014). Effect of nitrogen oxides intoxication on the liver lipid-carbohydrate metabolism and probability of hepatosis pharmacoprophyllaxis. *Pacific Medical Journal*, 2 (56), 77–80.
8. Sanotsky I.V. (ed.) (1970). *Methods for the Determination of Toxicity and Danger of Chemicals (Toxicometry)*. Moscow, 344 p. In Russ.
9. Rakhmanin Yu.A., Kropotov A.V., Kushnerova N.F., Veselkov O.V. (1998) The prophylactic effect of the antihypoxant amtizol during nitrogen oxides intoxication. *Hygiene and Sanitation*, 2, 34–37. In Russ.
10. Vengerovsky A.I., Markova I.V., Saratikov A.S. (1999). Preclinical study of hepatoprotective agents. *Journal of Pharmaceutical Committee*, 2, 9–12. In Russ.
11. Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yankova V.I. (2003). *Guide to Methods for Studying the Parameters of the System “Lipid Peroxidation – Antioxidant Protection” in Biological Fluids*. Vladivostok, 80 p. In Russ.
12. Pokrovsky A.A. (1969). *Biochemical Research Methods in the Clinic*. Moscow, 85 p.
13. Klingenberg M. (1983). Determination of NAD+ (pp. 253–257). In H.U. Bergmeyer *Methods of Enzymatic Analysis*. Basel: Verlag Chemie.
14. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. (1982). *Clinical Chemistry Handbook*. Minsk, 336 p. In Russ.
15. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. (1975). An universal reagent for phospholipid analysis. *J. Chromatogr.*, 114 (1), 129–141.
16. Amenta J.S. (1964). A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.*, 5 (2), 270–272.
17. Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Bondar I.A., Trufakin V.A. (2008). *Oxidative stress. Pathosises and Diseases*. Novosibirsk, 284 p. In Russ.
18. Gaskina T.K., Kurilovich S.A., Gorchakov V.N. (1989). Change in the rate of lecithin cholesterol acyltransferase reaction and serum lipid parameters under the influence of catergen in conditions of acute experimental liver degeneration. *Medical Chemistry Issues*, 35 (4), 24–28. In Russ.
19. Bors W., Michel C., Stettmaier K. (2000). Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters. *Arch. Biochem. Biophys.*, 374 (2), 347–355.
20. Saija A., Scalese M., Lanza M. et al. (1995). Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. *Free Radic. Biol. Med.*, 19 (4), 481–486.
21. Yang T.T., Koo M.W. (2000). Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion. *Life Sci.*, 66 (5), 411–423.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Другова Елена Сергеевна** — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

## ABOUT THE AUTHORS

**Drugova Elena Sergeyevna** — Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

**Kushnerova Natalya Fedorovna** — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

**Кушнерова Наталья Федоровна** — д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

**Мерзляков Валерий Юрьевич** — научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

**Фоменко Светлана Евгеньевна** — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

**Спрыгин Владимир Геннадьевич** — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (Владивосток).

**Момот Татьяна Викторовна** — канд. мед. наук, директор департамента медицинской биохимии и биофизики Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Владивосток).

**Образец цитирования:** Другова Е.С., Кушнерова Н.Ф., Мерзляков В.Ю., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Растительные фенольные соединения в профилактике метаболических нарушений при интоксикации оксидами азота в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 44–54.

**Merzlyakov Valery Yuryevich** — Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

**Fomenko Svetlana Evgenyevna** — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

**Sprygin Vladimir Gennadyevich** — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher Biochemistry Laboratory, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute (Vladivostok).

**Momot Tatyana Viktorovna** — Cand. Sci. (Med.), Head Medical Biochemistry and Biophysics Department, Far Eastern Federal University, School of Biomedicine (Vladivostok).

**Citation example:** Drugova E.S., Kushnerova N.F., Merzlyakov V.Yu., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Momot T.V. (2020). Plant phenolic compounds in prevention of metabolic disturbances during nitrogen oxides intoxication in experiment. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 44–54.

## Структурно-функциональное состояние сердца у больных пожилого возраста с сочетанной бронхообструктивной патологией и артериальной гипертензией

Третьяков С.В., Попова А.А., Дёмин А.А.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

## Structural and functional state of the heart in elderly patients with combined broncho-obstructive pathology and arterial hypertension

Tretyakov S.V., Popova A.A., Demin A.A.

Novosibirsk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

С целью уточнения особенностей структурно-функционального состояния сердца при сочетании хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмы (БА) у лиц пожилого возраста с артериальной гипертензией (АГ) проведено данное исследование. Обследовано 15 мужчин с ХОБЛ и БА (средний возраст —  $68.4 \pm 3.6$  г.). Группу сравнения составили 15 больных ХОБЛ (средний возраст —  $63.4 \pm 3.2$  г.). У всех лиц ХОБЛ была категории В.

Выявлено, что при сочетанной бронхообструктивной патологии, в отличие от больных с ХОБЛ, у лиц пожилого возраста с АГ отмечается большая степень выраженности концентрической гипертрофии левого желудочка при повышении его контрактильности (а именно глобальной продольной систолической способности) на фоне отсутствия отличий по диастолической его функции и, в частности, продольной. При сочетании ХОБЛ и БА, в отличие от больных с ХОБЛ, у лиц пожилого возраста с АГ отмечается большая степень нарушения активного расслабления правого желудочка при повышении его функции, в частности глобальной продольной систолической функции, на фоне более выраженной легочной гипертензии. Выявленные особенности гемодинамики малого круга кровообращения и функции правого желудочка являются основой для выбора патогенетически оправданной терапии, направленной не только на снижение давления в легочной артерии, но и на улучшение кальциевых механизмов как в систолу, так и в диастолу.

**Ключевые слова:** левый желудочек, правый желудочек, сократительная функция, диастолическая функция, хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма.

### ABSTRACT

In order to specify features of a structural and functional state of the heart in the combination of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and bronchial asthma (BA) in elderly people with arterial hypertension (AH) this research was conducted. The 15 men with COPD and BA (average age —  $68.4 \pm 3.6$  years) were surveyed. The group of comparison consisted of 15 patients with COPD (average age —  $63.4 \pm 3.2$  years). All patients had type B COPD.

It was revealed that in the combined broncho-obstructive pathology, unlike patients with COPD, the elderly people with AH show a greater degree of concentric hypertrophy of left ventricle with an increase in its contractility (namely, global longitudinal systolic capacity) against the background of lack of differences in its diastolic function and longitudinal in particular. When COPD and BA are combined the elderly people with AH, unlike patients with COPD, have a larger degree of impaired active relaxation of the right ventricle with an increase in its function, particularly global longitudinal systolic function, against the background of more pronounced pulmonary hypertension. The revealed features of hemodynamics of pulmonary circulation and function of right ventricle are the basis for choosing pathogenetically justified therapy aimed not only at decreasing the pulmonary artery pressure, but also at improvement of calcium mechanisms in both systole and diastole.

**Keywords:** left ventricle, right ventricle, contractile function, diastolic function, chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma.

Поступила 04.04.2019  
Принята 14.05.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Третьяков Сергей Владиславович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: ser53953824@yandex.ru

Received 04.04.2019  
Accepted 14.05.2019

\*Corresponding author  
Tretyakov Sergey Vladislavovich: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: ser53953824@yandex.ru

## ВВЕДЕНИЕ

К наиболее распространенным и значимым сопутствующим заболеваниям при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) относится сердечно-сосудистая патология (выявляется в 65 % случаев) [1, 2]. По данным эпидемиологических исследований на больших популяциях у пациентов с ХОБЛ отмечается в 2–3 раза больший риск кардиоваскулярной смерти [3]. В клинической картине внутренних болезней артериальная гипертензия (АГ) у больных ХОБЛ представляет одно из частых коморбидных состояний. По данным разных авторов частота АГ при ХОБЛ варьирует в широких пределах, достигая 76,3 %, и составляет в среднем 34,3 % случаев [1, 4]. Не только локальное воспаление в бронхах, но и персистирующее системное воспаление [5, 6], свойственное больным ХОБЛ, вносит существенный вклад в патогенез атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у больных с бронхообструктивной патологией. У больных ХОБЛ повышенный риск сердечно-сосудистых осложнений связан с высокими концентрациями в крови С-реактивного белка и TNF- $\alpha$  [7]. Вместе с тем примерно 7 % больных ХОБЛ одновременно страдают бронхиальной астмой (БА) [1, 8].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Уточнение особенностей структурно-функционального состояния сердца при сочетании хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы у лиц пожилого возраста с артериальной гипертензией

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 15 мужчин с ХОБЛ и БА (основная группа), средний возраст —  $68.4 \pm 3.6$  г. Группу сравнения составили 15 больных ХОБЛ (средний возраст —  $63.4 \pm 3.2$  г.). У всех лиц ХОБЛ была категории В. Средняя величина систолического АД в основной группе составила  $154.2 \pm 8.8$  мм рт. ст., в группе сравнения —  $156.5 \pm 19.9$  мм рт. ст. Величина диастолического давления —  $83.6 \pm 6.2$  мм рт. ст. у больных основной группы и  $86.6 \pm 15.4$  мм рт. ст. у лиц с ХОБЛ. Критериями исключения из исследования были: инфаркт миокарда в анамнезе, фибрилляция предсердий, клапанная патология сердца, сердечная недостаточность 3–4-го функциональных классов, ожирение 2–3-й степени.

С целью изучения структурно-функционального состояния сердца проводилось ультразвуковое исследование на аппарате Mindray.

## INTRODUCTION

The most common and significant concomitant diseases in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) include cardiovascular pathology (detected in 65% of cases) [1, 2]. According to epidemiological studies in large populations, patients with COPD have 2–3 times greater risk of cardiovascular death [3]. In the clinical picture of internal diseases arterial hypertension (AH) in patients with COPD is one of the frequent comorbid states. According to different authors AH frequency in COPD varies over a wide range, reaching 76.3% and is on average 34.3% of cases [1, 4]. Not only local inflammation in bronchi, but also the persistent systemic inflammation [5, 6] characteristic of patients with COPD contributes significantly to pathogenesis of atherosclerosis and other cardiovascular diseases (CVD) in cases of bronchoobstructive pathology. In patients with COPD an increased risk of cardiovascular complications is associated with high blood concentrations of C-reactive protein and TNF- $\alpha$  [7]. At the same time, approximately 7% of COPD patients suffer simultaneously from bronchial asthma (BA) [1, 8].

## AIM OF THE RESEARCH

To specify the features of structural and functional state of heart in chronic obstructive pulmonary disease associated with bronchial asthma in elderly people with arterial hypertension.

## MATERIALS AND METHODS

15 men with COPD and BA (the main group) were examined, average age —  $68.4 \pm 3.6$  years. Group of comparison consisted of 15 patients with COPD (average age —  $63.4 \pm 3.2$  years). All individuals with COPD had category B. The average systolic arterial blood pressure in the main group was  $154.2 \pm 8.8$  mm Hg, in the group of comparison —  $156.5 \pm 19.9$  mm Hg. The maximum diastolic pressure was  $83.6 \pm 6.2$  mm Hg in patients of the main group and  $86.6 \pm 15.4$  mm Hg in persons with COPD. Criteria of exclusion from the study were: myocardial infarction in the anamnesis, atrial fibrillation, valvular heart disease, heart failure of the 3–4<sup>th</sup> functional classes, obesity of the 2<sup>d</sup> to 3<sup>d</sup> degree.

In order to study the structural and functional state of the heart the Mindray ultrasound examination was performed.

We determined the following parameters: end-diastolic volume and size (EDV, ml; EDS, cm),

Определяли конечный диастолический объем и размер (КДО, мл; КДР, см), конечный систолический объем и размер (КСО, мл; КСР, см) левого желудочка (ЛЖ), ударный объем (УО) ЛЖ, фракцию выброса (ФВ, %), индекс массы миокарда ЛЖ (ИММ, г/м<sup>2</sup>) и индекс относительной толщины стенки левого желудочка (ИОТ).

Диастолическую функцию левого желудочка сердца оценивали методом доплерэхокардиографии, которую выполняли в импульсном режиме с использованием верхушечного доступа в четырехкамерной проекции сердца. Определяли следующие параметры: максимальную скорость раннего наполнения (Е, см/с), максимальную скорость предсердного наполнения (А, см/с), их соотношение (Е/А), фазу раннего наполнения (FEF, с), фазу предсердного наполнения (FAF, с), механическую диастолу (MD, с), средние скорости раннего и предсердного наполнения (ASE, см/с; ASA, см/с) [9].

Глобальную продольную систолическую и диастолическую функции левого и правого желудочков оценивали по тканевому доплеровскому спектру. В каждом тканевом доплеровском спектре определяли максимальную (пиковую) систолическую скорость движения митрального кольца (Sm, см/с), максимальные диастолические скорости в раннюю фазу (Em, см/с) и предсердную фазу (Am, см/с), соотношения Em/Am и E/Em, продолжительность фазы изометрического расслабления (IVRT, мс), периода предызгнания (PP, мс) [9, 10].

Определялись давление в правом предсердии (RAP, мм рт. ст.) [11], процент укорочения площади правого желудочка (CRVA, %) [12–14], объем правого желудочка в систолу (RVVs, см<sup>3</sup>) и диастолу (RVVd, см<sup>3</sup>) [15–18], ударный объем правого желудочка (RVSV, мл), фракция выброса правого желудочка (RVEF, %) [15, 18], среднее давление в легочной артерии (PAPm, мм рт. ст.) [19], давление заклинивания в легочной артерии (PCWP, мм рт. ст.) [20], легочное сосудистое сопротивление (PVR, дин · с · см<sup>-5</sup>) [21], продолжительность периода изгнания правого желудочка (PERV, мс), соотношение PP/PERV (усл. ед.) и Tei-индекс, представляющий собой сумму показателей, отражающих систолическую и диастолическую функции и количественно характеризующий глобальную функцию правого желудочка [22].

Полученный цифровой материал был обработан с помощью вариационно-статистических методов путем расчета средней арифметической ( $M$ ), среднеквадратичного отклонения ( $\sigma$ ). Раз-

end-systolic volume and size (ESV, ml; ESS, cm) of left ventricle (LV), stroke volume (SV) of LV, ejection fraction (EF, %), myocardial mass index of LV (MMI, g/m<sup>2</sup>) and index of relative wall thickness of left ventricle (IRWT).

Diastolic function of the left ventricle of the heart was estimated by method of doppler echocardiography which was performed in pulse mode using apical access in a four-chamber projection of the heart. The following parameters were determined: the maximum early filling velocity (E, cm/s), the maximum atrial filling velocity (A, cm/s), their ratio (E/A), phase of early filling (FEF, s), phase of atrial filling (FAF, s), mechanical diastole (MD, s), average velocities of early and atrial filling (ASE, cm/s; ASA, cm/s) [9].

Global longitudinal systolic and diastolic functions of left and right ventricles were evaluated using the tissue Doppler spectrum. In each tissue Doppler spectrum the following parameters were determined: maximum (peak) systolic mitral annulus velocity (Sm, cm/s); maximum diastolic velocities in the early phase (Em, cm/s) and in the atrial phase (Am, cm/s); Em/Am and E/Em ratios; duration of the isometric relaxation phase (IVRT, ms); duration of pre-ejection period (PP, ms) [9, 10].

Besides we determined the pressure in the right atrium (RAP, mm Hg) [11], the percentage of shortening of right ventricular area (CRVA, %) [12–14], right ventricular volume in a systole (RVVs, cm<sup>3</sup>) and in a diastole (RVVd, cm<sup>3</sup>) [15–18], right ventricular stroke volume (RVSV, ml), right ventricular ejection fraction (RVEF, %) [15, 18], average pulmonary artery pressure (PAPm, mm Hg) [19], pulmonary capillary wedge pressure (PCWP, mm Hg) [20], pulmonary vascular resistance (PVR, dynes · s · cm<sup>-5</sup>) [21], period of ejection of right ventricle (PERV, ms), PP/PERV ratio (standard unit) and the Tei-index which is representing the sum of parameters reflecting systolic and diastolic functions and quantitatively characterizing global function of right ventricle [22].

The received digital material was processed using variational and statistical methods by calculation the arithmetic mean ( $M$ ), standard deviation ( $\sigma$ ). The difference of indicators was determined by method of differential statistics according to Student criterion and was considered statistically significant at  $p < 0.05$  (at 5% level of significance). Correlation analysis was performed. The Pearson linear correlation coefficient  $r$  was used. The presence of high correlation relationship was considered at  $r = 0.87–1.0$ .

личие показателей определялось методом разностной статистики по критерию Стьюдента и считалось статистически значимым при  $p < 0.05$  (при 5% уровне значимости). Проводился корреляционный анализ. Использовался коэффициент линейной корреляции Пирсона  $r$ . Наличие высокой корреляционной взаимосвязи считали при  $r = 0.87-1.0$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основной группе, в отличие от больных с ХОБЛ, отмечается уменьшение КДО левого желудочка на 9.1 % и КСО ЛЖ на 41.5 % ( $p < 0.05$ ) на фоне возрастания УО ЛЖ на 11.7 % ( $p < 0.05$ ), ФВ — на 15.5 % ( $p < 0.05$ ), ИММ ЛЖ — на 20.8 % ( $p < 0.05$ ) и ИОТ — на 17.6 % ( $p < 0.05$ ) (табл. 1). У больных во всех группах регистрировалась концентрическая гипертрофия левого желудочка.

Изучение диастолической функции левого желудочка показало, что у больных как основной группы, так и группы сравнения нарушена глобальная диастолическая функция (табл. 2).

У лиц с ХОБЛ и БА, в отличие от группы сравнения, хотя и отмечаются более высокие значения максимальных и средних скоростей потоков как в фазу раннего наполнения, так и предсердного, однако соотношение пиковых скоростей свидетельствует об отсутствии различий в степени нарушения пассивного наполнения левого желудочка между группами. На фоне отсутствия отличий между группами по продолжительности механической диастолы у больных основной группы регистрируется более продолжительная (на 11.8 %) фаза предсердного наполнения ( $p < 0.05$ ). В основной группе, в отличие от группы сравнения, происходит незначительное (на 6.2 %) укорочение фазы изоволюмического расслабления, т. е. не замедляется удаление ионов кальция из миоплазмы в

## RESULTS AND DISCUSSION

In the main group, in contrast to patients with COPD, reduction of LV EDV by 9.1% and LV ESV by 41.5% ( $p < 0.05$ ) against the background of increase of LV SV by 11.7% ( $p < 0.05$ ), EF — by 15.5% ( $p < 0.05$ ), LV MMI — by 20.8% ( $p < 0.05$ ) and IRVT — by 17.6% ( $p < 0.05$ ) was noted (see Table 1). The concentric hypertrophy of left ventricle was registered in patients of all groups.

The study of diastolic function of left ventricle showed that the global diastolic function was impaired in patients of both the main and the comparison groups (see Table 2).

In individuals with COPD and BA, in contrast to the comparison group, although higher values of maximum and average flow velocity rates are noted both in the phase of early filling and atrial phase, however, the ratio of peak velocities indicates that there are no differences in the severity of disturbances in passive filling of left ventricle between the groups. More prolonged (by 11.8%) atrial filling phase is registered ( $p < 0.05$ ) in patients of the main group with the absence of differences between groups in length of mechanical diastole. In the main group, unlike the comparison group, there is a slight (by 6.2%) shortening of isovolumic relaxation time, i.e. the removal of calcium ions from the myoplasm in diastole is not slowed down, and there are no differences in the duration of pre-ejection period (in the velocity of calcium ions entering the myoplasm in systole) (see Table 2).

Data from tissue Doppler echocardiography (see Table 3) show higher values of Sm, which reflects the state of global contractile longitudinal function of LV, in the main group compared to the comparison group. Sm has a correlation to the LVEF and the LVSV value. There were no differences between groups in the state of longitudinal

**Таблица 1.** Некоторые структурно-функциональные показатели левого желудочка ( $M \pm \sigma$ )

**Table 1.** Several structural-functional parameters of the left ventricle ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
КДР, см / EDS, cm	5.2 ± 0.71	5.0 ± 1.1	—
КСП, см / ESS, cm	3.5 ± 0.5	2.8 ± 0.6	—
КДО, мл / EDV, ml	132.0 ± 2.7	120.0 ± 7.7	—
КСО, мл / ESV, ml	54.0 ± 1.5	31.6 ± 1.6	—
УО, мл / SV, ml	78.0 ± 5.5	88.3 ± 4.1	<0.05
ФВ, % / EF, %	62.0 ± 2.7	73.3 ± 3.4	<0.05
ИОТ / IVRT	0.47 ± 0.42	0.57 ± 0.61	<0.05
ИММ, г/м <sup>2</sup>   MMI, g/m <sup>2</sup>	164.7 ± 2.71	207.7 ± 5.37	<0.05

**Таблица 2.** Показатели диастолической функции левого желудочка ( $M \pm \sigma$ )  
**Table 2.** Parameters of diastolic function of the left ventricle ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
E, см/с   cm/s	63.0 $\pm$ 0.01	70.92 $\pm$ 0.02	<0.05
A, см/с   cm/s	70.7 $\pm$ 0.03	78.9 $\pm$ 0.02	<0.05
E/A	0.89 $\pm$ 0.03	0.89 $\pm$ 0.03	—
FEF, с   s	262.5 $\pm$ 0.04	284.4 $\pm$ 0.04	—
FAF, с   s	162.0 $\pm$ 0.04	183.6 $\pm$ 0.04	<0.05
MD, с   s	475.5 $\pm$ 0.02	477.6 $\pm$ 0.04	<0.05
ASE, см/с   cm/s	36.75 $\pm$ 0.07	44.35 $\pm$ 0.09	<0.05
ASA, см/с   cm/s	41.67 $\pm$ 0.88	40.3 $\pm$ 0.71	—
IVRT, мс / ms	97.5 $\pm$ 0.02	91.5 $\pm$ 0.02	—
PP, мс / ms	99.0 $\pm$ 1.11	102.0 $\pm$ 0.59	—

диастолу, и отсутствуют отличия по продолжительности периода предызгнания (по скорости вхождения ионов кальция в миоплазму в систолу) (см. табл. 2).

Данные тканевой доплерокардиографии (табл. 3) демонстрируют более высокие значения показателя Sm, отражающего состояние глобальной сократительной продольной функции левого желудочка, в основной группе по сравнению с группой больных ХОБЛ. Sm имеет корреляционную связь с ФВЛЖ и величиной УОЛЖ. Не было отличий между группами по состоянию продольной функции сердца в диастолу. Вместе с тем показатель E/Em в основной группе был на 12 % больше ( $p < 0.05$ ), что косвенно свидетельствует о более высоких средних значениях давления заклинивания легочной артерии: в основной группе этот показатель был на 7.4 % выше, чем в группе сравнения (табл. 3).

Изучение диастолической функции правого желудочка показало, что у больных как основной группы, так и группы сравнения нарушена глобальная диастолическая функция (табл. 4). У лиц с ХОБЛ и БА, в отличие от группы сравнения, хотя и отмечаются более высокие значения

function of the heart in diastole. At the same time, the E/Em index in the main group was 12% higher ( $p < 0.05$ ), which indirectly indicates higher average pulmonary capillary wedge pressure: it was 7.4% higher in the main group than in the comparison group (Table 3).

The study of diastolic function of the right ventricle showed that in patients of both the main and the comparison groups the global diastolic function was impaired (Table 4). In patients with COPD and BA in contrast to the comparison group, although there are higher values of maximum and average flow velocities both in the early filling phase and in the atrial phase, the ratio of peak velocities indicates no difference in the degree of loss of passive right ventricle filling between groups. Although we find no differences in the duration of phases of the early filling and the atrial filling between the groups, in patients of the main group a longer (by 13%) mechanical diastole ( $p < 0.05$ ) due to elongation of diastasis period is noted. In the main group, unlike the comparison group, the isovolumic relaxation phase is lengthened by 18.8% ( $p < 0.05$ ), that is, the removal of calcium ions from the myoplasm

**Таблица 3.** Показатели продольной глобальной функции левого желудочка ( $M \pm \sigma$ )  
**Table 3.** Parameters of longitudinal global function of the left ventricle ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
Sm, см/с   cm/s	23.3 $\pm$ 0.03	27.2 $\pm$ 0.03	<0.05
Em, см/с   cm/s	29.14 $\pm$ 0.02	29.06 $\pm$ 0.03	—
Am, см/с   cm/s	34.8 $\pm$ 0.005	33.87 $\pm$ 0.005	<0.05
Em/Am	0.83 $\pm$ 0.04	0.86 $\pm$ 0.05	—
E/Em	2.14 $\pm$ 0.02	2.43 $\pm$ 0.01	<0.05
PCWP (среднее), мм рт. ст. PCWP (average), mm Hg	4.55 $\pm$ 0.12	4.91 $\pm$ 0.14	—

**Таблица 4.** Показатели диастолической функции правого желудочка ( $M \pm \sigma$ )  
**Table 4.** Parameters of diastolic function of the right ventricle ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
E, см/с   cm/s	40.58 $\pm$ 0.01	50.47 $\pm$ 0.02	<0.05
A, см/с   cm/s	51.06 $\pm$ 0.03	65.65 $\pm$ 0.02	<0.05
E/A, с   s	0.76 $\pm$ 0.03	0.75 $\pm$ 0.03	—
FEF, с   s	267.60 $\pm$ 0.04	261.60 $\pm$ 0.04	—
FAF, с   s	182.40 $\pm$ 0.04	175.20 $\pm$ 0.04	—
MD, с   s	436.40 $\pm$ 0.02	501.60 $\pm$ 0.04	<0.05
ASE, см/с   cm/s	24.21 $\pm$ 0.07	30.90 $\pm$ 0.09	<0.05
ASA, см/с   cm/s	33.60 $\pm$ 0.88	36.64 $\pm$ 0.71	<0.05
IVRT, мс   ms	78.00 $\pm$ 0.02	96.00 $\pm$ 0.02	<0.05
PP, мс   ms	93.63 $\pm$ 1.11	69.60 $\pm$ 0.59	<0.05

максимальных и средних скоростей потоков как в фазу раннего наполнения, так и предсердного, однако соотношение пиковых скоростей свидетельствует об отсутствии различий в степени нарушения пассивного наполнения правого желудочка между группами. На фоне отсутствия отличий между группами по продолжительности фаз раннего и предсердного наполнений у больных основной группы отмечается более продолжительная (на 13 %) механическая диастола ( $p < 0.05$ ), за счет удлинения периода диастазиса. В основной группе, в отличие от группы сравнения, происходит удлинение фазы изоволюмического расслабления на 18.8 % ( $p < 0.05$ ), т. е. замедляется удаление ионов кальция из миоплазмы в диастолу, и укорочение периода предызгнания в 1.34 раза ( $p < 0.05$ ), свидетельствующее об ускорении вхождения ионов кальция в миоплазму в систолу (см. табл. 4).

Данные тканевой доплерокардиографии демонстрируют отсутствие отличий между группами по состоянию продольной функции сердца в диастолу. Несмотря на большие скорости Em (на 10.3 %,  $p < 0.05$ ) и Am (на 11.2 %,  $p < 0.05$ ) в группе ХОБЛ + БА по сравнению с группой ХОБЛ, соотношение Em/Am не имело статистически достоверных отличий, а показатель E/Em был в основной группе на 11 % выше ( $p < 0.05$ ). При этом значения давления в правом предсердии между группами достоверных отличий не имели (табл. 5).

У больных с ХОБЛ и БА, в отличие от группы сравнения, отмечается возрастание показателя Sm (см. табл. 5), отражающего глобальную продольную систолическую функцию правого желудочка, на 29 % ( $p < 0.05$ ). В основной группе объем правого желудочка в систолу на 12.9 % ( $p < 0.05$ ) меньше, а в диастолу — на 19 % ( $p < 0.05$ ), чем в

in diastole is slowed down, and pre-ejection period is shortened by 1.34 times ( $p < 0.05$ ), indicating the acceleration of calcium ions entering the myoplasm during systole (Table 4).

The tissue Doppler echocardiography data demonstrate the absence of differences between the groups according to the state of longitudinal function of the heart in diastole. Despite the high velocities of Em (10.3%,  $p < 0.05$ ) and Am (11.2%,  $p < 0.05$ ) in the COPD + BA group compared to the COPD group, the Em/Am ratio had no statistically significant differences and the E/Em parameter was 11% higher in the main group ( $p < 0.05$ ). At the same time, there were no significant differences in the pressure values in the right atrium between the groups (Table 5).

In patients with COPD and BA, in contrast to the comparison group, there is an increase in Sm (see Table 5), which reflects the global longitudinal systolic function of the right ventricle, by 29% ( $p < 0.05$ ). In the main group, the volume of the right ventricle in systole is 12.9% ( $p < 0.05$ ) less, and in the diastole — by 19% ( $p < 0.05$ ) less, than in the comparison group, which led to a decrease in stroke volume of the right ventricle in the group of people with combined bronchopulmonary pathology by 24% ( $p < 0.05$ ) in the absence of significant differences in the EF of the right ventricle (Table 6). The percentage of right ventricular area shortening in the main group was 29.3% less ( $p < 0.05$ ) than in the comparison group.

Study of pulmonary circulation hemodynamics in persons with COPD and BA (see Table 6) shows a 17.7% increase in mean pulmonary artery pressure ( $p < 0.05$ ) in the absence of reliable differences in the pulmonary artery wedge pressure reflecting the level

**Таблица 5.** Показатели продольной глобальной функции правого желудочка и давления в правом предсердии ( $M \pm \sigma$ )**Table 5.** Parameters of longitudinal global function of the right ventricle and pressure in the right atrium ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
Sm, см/с   cm/s	29.98 ± 0.03	42.22 ± 0.03	<0.05
Em, см/с   cm/s	28.92 ± 0.02	32.16 ± 0.03	<0.05
Am, см/с   cm/s	37.87 ± 0.005	42.62 ± 0.005	<0.05
Em/Am	0.76 ± 0.04	0.75 ± 0.05	—
E/Em	1.41 ± 0.02	1.57 ± 0.01	<0.05
РАР, мм рт. ст. / RAP, mm Hg	3.60 ± 0.04	3.84 ± 0.02	—

группе сравнения, что повлекло снижение ударного объема правого желудочка в группе лиц с сочетанной бронхолегочной патологией на 24 % ( $p < 0.05$ ) при отсутствии достоверных отличий по ФВ правого желудочка (табл. 6). Процент укорочения площади правого желудочка в основной группе меньше на 29.3 % ( $p < 0.05$ ), чем в группе сравнения.

Изучение гемодинамики малого круга кровообращения у лиц с ХОБЛ и БА (см. табл. 6) демонстрирует повышение среднего давления в легочной артерии на 17.7 % ( $p < 0.05$ ) при отсутствии достоверных отличий по давлению заклинивания в легочной артерии, отражающему уровень давления в легочных венах, а значит, и в левом предсердии, и по величине легочного сосудистого сопротивления по сравнению с лицами с ХОБЛ. Величина Tei-индекса в основной группе на 10 % меньше, чем в группе сравнения, что свидетельствует о повышении функции правого желудочка сердца. Это косвенно подтверждает и величина соотношения PP/PERV, которая уменьшается в основной группе на 30 % ( $p < 0.05$ ).

of pressure in the pulmonary veins and therefore in the left atrium, and in the value of pulmonary vascular resistance compared to persons with COPD. The value of the Tei-index in the main group is 10% less than in the group of comparison, indicating an increase in the function of right ventricle of the heart. This is also confirmed by the PP/PERV ratio, which is reduced by 30% in the main group ( $p < 0.05$ ).

## CONCLUSION

The conducted study allows us to draw the following conclusions:

1. In case of combined broncho-obstructive pathology the elderly people with arterial hypertension, unlike the patients with COPD, have a greater severity of concentric hypertrophy of left ventricle with an increase in its contractility (namely global longitudinal systolic capacity) against the background of lack of differences on its diastolic function and, in particular, longitudinal one.

2. When COPD and BA are combined the elderly people with arterial hypertension unlike pa-

**Таблица 6.** Показатели гемодинамики малого круга кровообращения и сократительной способности правого желудочка ( $M \pm \sigma$ )**Table 6.** Parameters of hemodynamics of pulmonary circulation and right ventricle compressive capacity ( $M \pm \sigma$ )

Показатель / Parameter	ХОБЛ / COPD ( $n = 15$ )	ХОБЛ + БА / COPD + BA ( $n = 15$ )	$p$
CRVA, %	42.73 ± 2.71	30.23 ± 7.76	<0.05
РАРm, мм рт. ст.   mm Hg	38.70 ± 1.53	47.00 ± 1.68	<0.05
PCWP, мм рт. ст.   mm Hg	3.60 ± 2.71	3.84 ± 7.76	—
RVR, дин · с · см <sup>-5</sup>   dyne · s · cm <sup>-5</sup>	34.4 ± 1.53	34.6 ± 1.68	—
PP/PERV, усл. ед.   c.u.	0.31 ± 5.58	0.22 ± 14.06	<0.05
RVVs, см <sup>3</sup>   cm <sup>3</sup>	25.7 ± 2.71	22.4 ± 2.71	<0.05
RVVd, см <sup>3</sup>   cm <sup>3</sup>	57.4 ± 2.71	46.5 ± 2.71	<0.05
RVSv, мл   ml	31.7 ± 2.71	24.1 ± 2.71	<0.05
RVEF, %	55.2 ± 2.71	51.8 ± 2.71	—
Tei-индекс / Tei-index	0.58 ± 0.04	0.52 ± 0.04	<0.05

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. При сочетанной бронхообструктивной патологии, в отличие от больных с ХОБЛ, у лиц пожилого возраста с артериальной гипертензией отмечается большая степень выраженности концентрической гипертрофии левого желудочка при повышении его контрактильности (а именно глобальной продольной систолической способности) на фоне отсутствия отличий по диастолической его функции и, в частности, продольной.

2. При сочетании ХОБЛ и БА, в отличие от больных с ХОБЛ, у лиц пожилого возраста с артериальной гипертензией отмечается большая степень нарушения активного расслабления правого желудочка при повышении его функции, в частности глобальной продольной систолической функции, на фоне более выраженной легочной гипертензии.

3. Выявленные особенности гемодинамики малого круга кровообращения и функции правого желудочка являются основой для выбора патогенетически оправданной терапии, направ-

ленной не только на снижение давления в легочной артерии, но и на улучшение кальциевых механизмов как в систолу, так и в диастолу.

3. The revealed features of hemodynamics of pulmonary circulation and function of right ventricle are the basis for the choice of pathogenetically justified therapy aimed not only at pulmonary artery pressure decrease, but also at improvement of calcium mechanisms both in systole and in diastole.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

ленной не только на снижение давления в легочной артерии, но и на улучшение кальциевых механизмов как в систолу, так и в диастолу.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания // *Терапевт. арх.* 2013. № 85 (8). С. 43–48.
2. Schneider K.M., O'Donnell B.E., Dean D. Prevalence of multiple chronic conditions in the United States' Medicare population // *Health Qual. Life Outcomes.* 2009. Vol. 7: 82.
3. Sin D.D., Man S.F. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease // *Circulation.* 2003. Vol. 107 (11). P. 1514–1519.
4. Задионченко В.С., Адашева Т.В., Федорова И.В., Нестеренко О.И., Миронова М.А. Артериальная гипертензия и хроническая обструктивная болезнь легких: клинико-патогенетические параллели и возможности терапии / *Рос. кардиол. журн.* 2009. Т. 14, № 6. С. 62–69.
5. Овчаренко С.И., Нерсисян З.Н., Морозова Т.Е. Хроническая обструктивная болезнь легких в сочетании с артериальной гипертензией: оценка системного воспаления и эндотелиальной дисфункции // *Пульмонология.* 2015. Т. 25, № 5. С. 561–565.
6. Nosratola D., Bernardo R. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension // *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 2006. Vol. 2 (10). P. 582–593.
7. Ställberg B., Selroos O., Vogelmeier C. et al. Budesonide / formoterol as effective as prednisolone plus formoterol in acute exacerbations of COPD. A double-blind, randomised, non-inferiority, parallel-group, multicentre study // *Respir. Res.* 2009. Vol. 10: 11.

## REFERENCES

1. Chuchalin A.G. (2013). Chronic obstructive pulmonary disease and associated diseases. *Therapeutic Archive, 85 (8)*, 43–48. In Russ.
2. Schneider K.M., O'Donnell B.E., Dean D. (2009). Prevalence of multiple chronic conditions in the United States' Medicare population. *Health Qual. Life Outcomes, 7*: 82.
3. Sin D.D., Man S.F. (2003). Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Circulation, 107 (11)*, 1514–1519.
4. Zadionchenko V.S., Adasheva T.V., Fedorova I.V., Nesterenko O.I., Mironova M.A. (2009). Arterial hypertension and chronic obstructive pulmonary disease: clinical pathogenetic parallels and possibilities of therapies. *Russian Journal of Cardiology, 6*, 62–69. In Russ.
5. Ovcharenko S.I., Nersesyan Z.N., Morozova T.E. (2015). A chronic obstructive pulmonary disease in combination with an arterial hypertension: assessment of system inflammation and endothelial dysfunction. *Russian Pulmonology, 25, 5*, 561–565. In Russ.
6. Nosratola D., Bernardo R. (2006). Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nat. Clin. Pract. Nephrol., 2 (10)*, 582–593.
7. Ställberg B., Selroos O., Vogelmeier C. et al. (2009). Budesonide /formoterol as effective as prednisolone plus formoterol in acute exacerbations of COPD. A double-blind, randomised, non-inferiority, parallel-group, multicentre study. *Respir. Res., 10*: 11.

8. Архипов В.В., Прозорова В.К., Архипова Д.Е. Сочетание бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. 2013. № 4. С. 87–94.
9. Рыбакова М.М., Митьков В.В., Платова М.А. Комплексная эхокардиографическая оценка систолической и диастолической функции левого и правого желудочков в норме // Ультразвук. и функц. диагностика. 2005. № 4. С. 64–71.
10. Meluzin J., Spinarová L., Bakala J. et al. Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid annular systolic motion; a new, rapid, and non-invasive method of evaluating right ventricular systolic function // *Eur. Heart J.* 2001. Vol. 22 (4). P. 340–348.
11. Nagueh M.F., Kopelen H.A., Zoghbi W.A., Quiñones M.A., Nagueh S.F. Estimation of mean right atrial pressure using tissue Doppler imaging // *Am. J. Cardiol.* 1999. Vol. 84 (12). P. 1448–1451.
12. Badeer H.S. Hemodynamics for medical students // *Adv. Physiol. Educ.* 2001. Vol. 25 (1–4). P. 44–52.
13. Edwards M.R., Bartlett N.W., Clarke D. et al. Targeting the NF- $\kappa$ B pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *Pharmac. Therap.* 2009. Vol. 121 (1). P. 1–13.
14. Florea V.G., Florea N.D., Sharma R. et al. Right ventricular dysfunction in adult severe cystic fibrosis // *Chest.* 2000. Vol. 118 (4). P. 1063–1068.
15. Gibson T., Miller S., Aretz T., Hardin N., Weyman A. Method for estimation right ventricular volume by planes applicable to cross-sectional echocardiography. Correlation with angiographic formulas // *Am. J. Cardiol.* 1985. Vol. 55 (13). P. 1584–1588.
16. Hinderliter A.L., Willis P.W., Barst R.J. et al. Effects of long-term infusion of prostacyclin (epoprostenol) on echocardiographic measures of right ventricular structure and function in primary pulmonary hypertension. Primary Pulmonary Hypertension Study Group // *Circulation.* 1997. Vol. 95 (6). P. 1479–1486.
17. Kaul S., Tei C., Hopkins J.M., Shah P.M. Assessment of right ventricular function using two-dimensional echocardiography // *Am. Heart J.* 1984. Vol. 107 (3). P. 526–531.
18. Levine R.A., Gibson T.C., Aretz T. et al. Echocardiographic measurement of right ventricular volume // *Circulation.* 1984. Vol. 69 (3). P. 497–505.
19. Kitabatake A., Inoue M., Asao M. et al. Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique // *Circulation.* 1983. Vol. 68 (2). P. 302–309.
20. Nagueh S.F., Middleton K.J., Kopelen H.A., Zoghbi W.A., Quiñones M.A. Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997. Vol. 30 (6). P. 1527–1533.
21. Abbas A., Fortuin D., Shiller N., Appleton C. A simple method for non-invasive estimation of pulmonary vascular resistance // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003. Vol. 41 (6). P. 1021–1027.
22. Tei C. New non-invasive index for combined systolic and diastolic ventricular function // *J. Cardiol.* 1995. Vol. 26. P. 135–136.
8. Arkhipov V.V., Prozorova V.K., Arkhipova D.E. (2013). Combination of bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Russian Pulmonology*, 4, 87–94. In Russ.
9. Rybakova M.M., Mit'kov V.V., Platova M.A. (2005). Comprehensive echocardiographic assessment of systolic and diastolic function of the left and right ventricles is normal. *Ultrasound and Functional Diagnostics*, 4, 64–71. In Russ.
10. Meluzin J., Spinarová L., Bakala J. et al. (2001). Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid annular systolic motion; a new, rapid, and non-invasive method of evaluating right ventricular systolic function. *Eur. Heart J.*, 22 (4), 340–348.
11. Nagueh M.F., Kopelen H.A., Zoghbi W.A., Quiñones M.A., Nagueh S.F. (1999). Estimation of mean right atrial pressure using tissue Doppler imaging. *Am. J. Cardiol.*, 84 (12), 1448–1451.
12. Badeer H.S. Hemodynamics for medical students. (2001). *Adv. Physiol. Educ.*, 25 (1–4), 44–52.
13. Edwards M.R., Bartlett N.W., Clarke D. et al. (2009). Targeting the NF- $\kappa$ B pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmac. Therap.*, 121 (1), 1–13.
14. Florea V.G., Florea N.D., Sharma R. et al. (2002). Right ventricular dysfunction in adult severe cystic fibrosis. *Chest*, 118 (4), 1063–1068.
15. Gibson T., Miller S., Aretz T., Hardin N., Weyman A. (1985). Method for estimation right ventricular volume by planes applicable to cross-sectional echocardiography. Correlation with angiographic formulas. *Am. J. Cardiol.*, 55 (13), 1584–1588.
16. Hinderliter A.L., Willis P.W., Barst R.J. et al. (1997). Effects of long-term infusion of prostacyclin (epoprostenol) on echocardiographic measures of right ventricular structure and function in primary pulmonary hypertension. Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *Circulation*, 95 (6), 1479–1486.
17. Kaul S., Tei C., Hopkins J.M., Shah P.M. (1984). Assessment of right ventricular function using two-dimensional echocardiography. *Am. Heart J.*, 107 (3), 526–531.
18. Levine R.A., Gibson T.C., Aretz T. et al. (1984). Echocardiographic measurement of right ventricular volume. *Circulation*, 69 (3), 497–505.
19. Kitabatake A., Inoue M., Asao M. et al. (1983). Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation*, 68 (2), 302–309.
20. Nagueh S.F., Middleton K.J., Kopelen H.A., Zoghbi W.A., Quiñones M.A. (1997). Doppler tissue imaging: a noninvasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 30 (6), 1527–1533.
21. Abbas A., Fortuin D., Shiller N., Appleton C. (2003). A simple method for non-invasive estimation of pulmonary vascular resistance. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 41 (6), 1021–1027.
22. Tei C. (1995). New non-invasive index for combined systolic and diastolic ventricular function. *J. Cardiol*, 26, 135–136.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Третьяков Сергей Владиславович** — д-р мед. наук, профессор кафедры поликлинической терапии и общей медицинской практики ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Попова Анна Александровна** — д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой поликлинической терапии и общей медицинской практики ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Дёмин Александр Аристархович** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Третьяков С.В., Попова А.А., Дёмин А.А. Структурно-функциональное состояние сердца у больных пожилого возраста с сочетанной бронхообструктивной патологией и артериальной гипертензией// *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020. № 1. С. 55–64.

## ABOUT THE AUTHORS

**Tretyakov Sergey Vladislavovich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Polyclinic Therapy and General Medical Practice, Novosibirsk State Medical University.

**Popova Anna Aleksandrovna** — Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor, Head, Department of Polyclinic Therapy and General Medical Practice, Novosibirsk State Medical University.

**Demin Aleksandr Aristarkhovich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Hospital Therapy, Novosibirsk State Medical University.

**Citation example:** Tretyakov S.V., Popova A.A., Demin A.A. (2020). Structural and functional state of the heart in elderly patients with combined broncho-obstructive pathology and arterial hypertension. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 55–64.

## Оценка влияния активности CYP3A на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью

Застрожин М.С.<sup>1,2</sup>, Смирнов В.В.<sup>3,4</sup>, Застрожина А.К.<sup>2</sup>, Гришина Е.А.<sup>2</sup>, Рыжикова К.А.<sup>2</sup>, Скрыбин В.Ю.<sup>1</sup>, Шипицын В.В.<sup>1</sup>, Брюн Е.А.<sup>1,2</sup>, Сычев Д.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва)

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Москва)

<sup>4</sup>ФГБУ «ГНИЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва)

## The estimation of influence of CYP3A activity on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorders comorbid with alcohol use disorder

Zastrozhin M.S.<sup>1,2</sup>, Smirnov V.V.<sup>3,4</sup>, Zastrozhina A.K.<sup>2</sup>, Grishina E.A.<sup>2</sup>, Ryzhikova K.A.<sup>2</sup>, Skryabin V.Yu.<sup>1</sup>, Shipitsyn V.V.<sup>1</sup>, Bryun E.A.<sup>1,2</sup>, Sychev D.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Moscow Research and Practical Centre for Narcology

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow)

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

<sup>4</sup>National Research Center — Institute of Immunology (Moscow)

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Флувоксамин используется для лечения пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом, причем немалая доля пациентов данной группы не отвечает должным образом на терапию, у многих отмечается развитие дозозависимых нежелательных лекарственных реакций. В ранее проводимых исследованиях показано, что в биотрансформации флувоксамина принимает участие CYP3A, активность которого во многом зависит от полиморфизма кодирующего его гена.

**Цель.** Изучить влияние активности CYP3A на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с расстройствами депрессивного спектра, коморбидными с алкогольной зависимостью.

**Материалы и методы.** В исследовании принимало участие 96 мужчин с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью (средний возраст —  $39.9 \pm 15.4$  г.). Для лечения применяли флувоксамин в дозе  $125.0 \pm 50.3$  мг/сут. Профиль эффективности оценивали с помощью валидизированных психометрических шкал, профиль безопасности терапии — при помощи международной валидизированной шкалы оценки выраженности побочного действия UKU. Генотипирование проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Активность CYP3A оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по отношению концентраций эндогенного субстрата и его метаболита в моче ( $6\beta$ -гидрооксикортизол/кортизол).

**Результаты.** В ходе проведенного анализа не были получены статистически значимые результаты в показателях оценки эффективности (баллы по шкале HAMD к концу курса терапии: генотип GG — 4.0 балла [2.0; 8.0], генотип GA — 3.0 балла [1.0; 5.0],  $p > 0.999$ ) и безопасности (баллы по шкале UKU: генотип GG — 3.0 балла [1.0; 5.0], генотип GA — 4.0 балла [3.0; 4.0],  $p > 0.999$ ).

Поступила 19.11.2019  
Принята 05.12.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Застрожин Михаил Сергеевич: ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы, 109390, г. Москва, ул. Люблинская, 37/1.  
E-mail: mszastrozhin@gmail.com

Received 19.11.2019  
Accepted 05.12.2019

\*Corresponding author  
Zastrozhin Mikhail Sergeyevich: Moscow Research and Practical Centre for Narcology, 37/1, Lublinskaya Str., Moscow, 109390, Russia.  
E-mail: mszastrozhin@gmail.com

**З а к л ю ч е н и е.** В исследовании, проведенном в группе из 96 пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом, было продемонстрировано отсутствие влияния активности CYP3A на показатели клинической эффективности и безопасности флувоксамина.

**Ключевые слова:** флувоксамин, CYP3A, фармакогенетика, биотрансформация, персонализированная медицина, депрессивные расстройства, алкогольная зависимость.

## ABSTRACT

**Introduction.** Fluvoxamine is used for treatment of patients with depressive disorders comorbid with alcohol use disorder while a considerable part of this group does not properly respond to therapy, the development of dose-dependent adverse drug effects is noted in many patients. In early studies it was shown that CYP3A is involved in biotransformation of fluvoxamine the activity of which depends in large part on the encoding gene polymorphism.

**Aim of the Research.** To study CYP3A activity influence on the efficacy and safety profile of fluvoxamine in patients with comorbid depressive disorders and alcohol addiction.

**Materials and Methods.** 96 males with depressive disorders comorbid with alcohol use disorder took part in the study (average age —  $39.9 \pm 15.4$  years). Fluvoxamine at a dose of  $125.0 \pm 50.3$  mg a day was used for treatment. The efficacy profile was estimated by means of the validated psychometric scales, and the therapy safety profile — by means of the UKU side effects rating scale. Genetic typing was performed by the method of real time PCR. CYP3A activity was estimated by high performance liquid chromatography based on the ratio of endogenous substrate and its metabolite concentrations in urine ( $6\beta$ -hydroxycortisol/cortisol).

**Results and Discussion.** In the course of the analysis no statistically significant results were obtained in terms of the effectiveness assessment (scores on the HAMD scale by the end of therapy: genotype GG — 4.0 scores [2.0; 8.0], genotype GA — 3.0 scores [1.0; 5.0],  $p > 0.999$ ) and safety assessment (scores on the UKU scale: genotype GG — 3.0 scores [1.0; 5.0], genotype GA — 4.0 scores [3.0; 4.0],  $p > 0.999$ ).

**Conclusion.** In a study conducted in a group of 96 patients with depressive disorders comorbid with alcohol addiction the absence of influence of CYP3A activity on the parameters of clinical efficacy and safety of fluvoxamine was demonstrated.

**Keywords:** fluvoxamine, CYP3A, pharmacogenetics, biotransformation, personalized medicine, depressive disorders, alcohol use disorder.

## ВВЕДЕНИЕ

Депрессивные расстройства являются одними из наиболее часто встречающихся коморбидных расстройств у пациентов с алкогольной зависимостью [1]. Антидепрессанты применяются для лечения пациентов с депрессивными расстройствами [2]. Представителем данной группы является флувоксамин [2]. В то же время, несмотря на то, что селективные ингибиторы обратного захвата серотонина внесены в рекомендации по терапии расстройств депрессивного спектра, число резистентных пациентов и пациентов с дозозависимыми нежелательными реакциями продолжает оставаться высоким [3].

Изофермент CYP3A4 принимает участие в метаболизме многих лекарств, используемых в терапии пациентов с депрессивными расстройствами [4]. При этом ген, кодирующий CYP3A4, обладает высокой степенью полиморфизма, что может приводить к изменению активности изоферментов подсемейства CYP3A [5]. Изменение активности влияет на скорость метаболизма ксенобиотиков, в том числе лекарственных средств (ЛС) — субстратов, что, в свою очередь, отражается на их эффективности и безопасности [6].

## INTRODUCTION

Depressive disorders are one of the mostly encountered comorbid conditions in alcohol addicted patients [1]. Antidepressants are used to treat patients with depressive disorders [2]. A representative of this group is fluvoxamine [2]. At the same time, while despite the fact that selective serotonin reuptake inhibitors are listed in guidelines for the therapy of depressive disorders, the number of resistant patients and the patients with dose-dependent adverse effects remains high [3].

Isoenzyme CYP3A4 takes part in metabolism of many drugs used for therapy of patients with depressive disorders [4]. Meanwhile, the gene encoding CYP3A4 has a high degree of polymorphism which can lead to a change in the activity of isoenzymes of CYP3A subfamily [5]. The activity change influences the xenobiotics metabolism rate including medicines (Ms) — substrates, which, in turn, affects their efficacy and safety [6].

Depending on the metabolic rate, 4 groups of metabolizers are distinguished: “prevailing” (extensive metabolizers) — with normal metabolic rate; “slow” (poor metabolizers) — with mutations in CYP3A4 gene resulting in a significant decrease

В зависимости от скорости метаболизма выделяют 4 группы метаболизаторов: «распространенные» (extensive metabolizers) — с нормальной скоростью метаболизма; «медленные» (poor metabolizers) — с мутациями в гене *CYP3A4*, приводящие к значительному снижению активности кодируемого белка и замедлению скорости биотрансформации лекарств-субстратов, что может увеличивать риск развития нежелательных реакций типа А; «промежуточные» (intermediate metabolizers) — с мутациями только в одной из гомологичных хромосом, что снижает активность *CYP3A*, но не настолько выражено, как у медленных метаболизаторов; «ультрабыстрые» (ultra-rapid metabolizers) — с генетически детерминированной высокой активностью *CYP3A*, обуславливающей ускорение элиминации ЛС-субстратов и снижение терапевтической эффективности [7].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние активности *CYP3A* на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с расстройствами депрессивного спектра, коморбидными с алкогольной зависимостью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Клиническая характеристика испытуемых.* В исследовании приняли участие 96 пациентов мужского пола (средний возраст —  $39.95 \pm 15.4$  г.). Критерии включения в исследование: установленный диагноз депрессивного эпизода (код по МКБ-10 — F32), а также наличие коморбидного психического или поведенческого расстройства, вызванного употреблением алкоголя (код по МКБ-10 — F10.2); наличие подписанного информированного согласия; терапия флувоксамином ( $125.0 \pm 50.3$  мг/сут), длительностью 16 дней. Критерии исключения: наличие других психических расстройств, а также выраженных соматических расстройств (за исключением алкогольного гепатита и токсической энцефалопатии); применение в терапии иных психотропных препаратов; клиренс креатинина  $< 50$  мл/мин, концентрация креатинина в плазме крови  $> 1.5$  мг/дл ( $133$  мкмоль/л); масса тела менее  $60$  кг или более  $100$  кг; возраст  $75$  лет и более; наличие противопоказаний к назначению флувоксамина.

*Оценка эффективности и безопасности терапии флувоксамином.* Профиль эффективности флувоксамина оценивали с помощью международных психометрических шкал: Пенсильванской шкалы патологического влечения (Pennsylvania Alcohol Craving Scale — PACS) [8], Визуально-аналоговой шкалы оценки влече-

ния в кодируемой белком активности и замедления биотрансформации лекарств-субстратов, что может увеличить риск типа А побочных реакций; «intermediate» (intermediate metabolizers) — с мутациями только в одной из гомологичных хромосом, что снижает активность *CYP3A*, но не настолько явно, как у медленных метаболизаторов; «ultra-rapid metabolizers» — с генетически детерминированной высокой активностью *CYP3A*, вызывающей ускорение элиминации ЛС-субстратов и снижение терапевтической эффективности [7].

## AIM OF THE RESEARCH

To estimate the *CYP3A* activity influence on the fluvoxamine efficacy and safety profile in patients with depressive disorders with comorbid alcohol dependence.

## MATERIALS AND METHODS

*Clinical characteristics of the subjects.* 96 males took part in the study (average age —  $39.9 \pm 15.4$  years). Criteria for inclusion in the study were as follows: diagnosed depressive episode (ICD-10 code — F32), also the presence of comorbid psychotic or behavioral disorder caused by alcohol consumption (ICD-10 code — F10.2); availability of the signed informative consent; fluvoxamine therapy ( $125.0 \pm 50.3$  mg a day) for 16 days. The criteria for exclusion were as follows: presence of other psychotic disorders, also apparent somatic disorders (except for alcoholic hepatitis and toxic encephalopathy); administration of other psychotropic drugs during therapy; creatinine clearance  $< 50$  ml/min, creatinine concentration in blood plasma  $> 1.5$  mg/dl ( $133$   $\mu$ mol/l); body mass less than  $60$  kg or more than  $100$  kg; age  $75$  years and more; presence of contraindications for fluvoxamine administration.

*The evaluation of the efficacy and safety of fluvoxamine therapy.* The profile of fluvoxamine efficacy was estimated by means of international psychometric scales: Pennsylvania Alcohol Craving Scale — PACS [8], Visual Analogue Scale (VAS) for alcohol craving, Clinical Global Impressions Scale — CGI [9], Hospital Anxiety and Depression Scale — HADS [10], the Hamilton Rating Scale for Depression (HamD) [11]. The safety profile was estimated by means of the UKU Side Effect Rating Scale (UKU) [12]. The examination of patients was performed on the 1<sup>st</sup>, 9<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> days of therapy that included fluvoxamine.

*Genetic typing.* To perform the genetic typing the venous blood samples were collected in vacuum

ния к алкоголю (ВАШ), Шкалы общего клинического впечатления (Clinical Global Impressions Scale — CGI) [9], Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale — HADS) [10], Шкалы депрессии Гамильтона (HamD) [11]. Профиль безопасности определяли с помощью шкалы оценки выраженности побочного действия ЛС (UKU Side Effect Rating Scale — UKU) [12]. Исследование пациентов проводили на 1-й, 9-й и 16-й день терапии, включавшей флувоксамин.

**Генотипирование.** Для проведения генотипирования использовали венозную кровь, собранную на 16-е сутки после начала применения флувоксамина в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия). Для определения однонуклеотидных генетических полиморфизмов (SNP's) 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367) применялся метод ПЦР в реальном времени на ДНК-амплификаторах *DTlite* компании «ДНК-Технология» (Россия) и Real-Time CFX96 Touch с ПО CFX Manager компании Bio-Rad (США) с наборами «SNP-Скрин» ЗАО «Синтол» (Россия). В каждом наборе «SNP-Скрин» использовались два аллель-специфичных зонда, которые позволяли раздельно определять сразу два аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции.

**Фенотипирование.** Активность *CYP3A* оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией по отношению концентраций эндогенного субстрата и его метаболита в моче (6-бета-гидрокортизол/кортизол) — отношение 6-бета-гидрокортизол/кортизол (6β-ГК/К) [13–15]. Результаты оценки активности *CYP3A* представлены в условных единицах.

**Локальный этический комитет.** Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России (протокол № 6 от 16.05.2017).

**Статистический анализ** результатов исследования проводили методами непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ StatSoft Statistica 10.0 (Dell Statistica, Tulsa, OK, the USA). При выборе метода учитывали нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью *W*-теста Шапиро — Уилка. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$  (при статистической мощности выше 80 %). Для сравнения двух выборок непрерывных независимых данных использовали *U*-тест Манна — Уитни, учитывающий ненормальный

tubes VACUETTE® (Greiner Bio-One, Austria) on the 16<sup>th</sup> day after the start of fluvoxamine treatment. To identify 99366316G>A single-nucleotide polymorphisms (SNP's) of *CYP3A4* (rs35599367) gene the method of PCR in real time was applied on *DTlite* DNA-amplifiers manufactured by DNA-Technology (Russia) and CFX96 Touch Real-Time System with CFX Manager software manufactured by Bio-Rad Laboratories Inc. (the USA) with SNP-Screen kits by Sintol (Russia). In each SNP-Screen kit, two allele-specific probes were used, which allowed to separately determine two alleles of the studied polymorphism at a time on two fluorescence channels.

**Phenotyping.** *CYP3A* activity was evaluated by high performance liquid chromatography with mass-spectrometry according to the concentration ratio of endogenous substrate and its metabolite in urine (6β-hydroxycortisol/cortisol) — the ratio of 6β-hydroxycortisol/cortisol (6β-HC/C) [13–15]. The results of the *CYP3A* activity assessment are presented in arbitrary units (a.u.).

**Local Ethics Committee.** The research was approved by Local Ethics Committee of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow) (Protocol No. 6 of May 16, 2017).

**Statistical analysis** of the results was performed by methods, of non-parametric statistics using a package of application programs StatSoft Statistica 10.0 (Dell Statistica, Tulsa, OK, the USA). When choosing the method, we took into account the normality of distribution of samplings estimated by means of Shapiro-Wilk's *W* test. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$  (at statistical power over 80%). To compare two samplings of continuous independent evidence Mann-Whitney *U*-test giving consideration the irregular distribution of data was used with the further correction of the value obtained by means of the multiple comparison test. Several samplings of continuous independent evidence were analyzed by means of Kruskal-Wallis *H*-test. Correlation analysis was carried out by means of non-parametric Spearman test which takes into account the abnormal distribution of samplings. The findings in our research work are presented as medians and interquartile range (*Me* [*Q*<sub>1</sub>; *Q*<sub>3</sub>]), or, in case of normal data distribution, as arithmetic mean and standard deviation (*Mean* ± *SD*).

## RESULTS AND DISCUSSION

Based on the results of *CYP3A4* genotyping using 99366316G>A (rs35599367) polymorphic

характер распределения данных, с дальнейшей коррекцией полученных значений с помощью процедуры множественного сравнения. Несколько выборок данных непрерывного типа анализировали с помощью *H*-теста Краскела — Уоллиса. Корреляционный анализ проводился с помощью непараметрического теста Спирмена, учитывающего ненормальный характер распределения выборок. Данные в работе представлены в виде медианы и интерквартильного размаха ( $Me [Q_1; Q_3]$ ) либо, в случае нормального характера их распределения, — в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ( $Mean \pm SD$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам генотипирования CYP3A4 по полиморфному маркеру 99366316G>A (rs35599367) у 96 испытуемых были получены следующие данные:

- количество пациентов, являющихся носителями генотипа GG — 85 (88.5 %);
- количество пациентов, являющихся носителями генотипа GA — 11 (11.5 %);
- пациентов с генотипом AA обнаружено не было.

Распределение генотипов соответствовало закону Харди — Вайнберга для европейской популяции ( $\chi^2 = 0.35, p = 0.55$ ).

Результаты оценки данных по психометрическим шкалам (PACS, ВАШ, CGI, HADS, HamD) и шкале оценки побочного действия ЛС (UKU) у пациентов, получавших флувоксамин, на 1-й, 9-й и 16-й дни исследования представлены в табл. 1.

Динамика изменения баллов по шкалам HamD и UKU у пациентов с разными генотипами представлена на рис. 1. По шкале HamD к 1-му дню исследования не выявлено статистически значимых различий по изучаемому полиморфному маркеру: GG — 23.0 балла [22.0; 24.0], GA — 23.0 балла [22.0; 23.0],  $p > 0.999$ . К 9-му дню исследования, так же как и в 1-й день, продолжало наблюдаться отсутствие статистически значимой разницы у носителей разных генотипов: GG — 15.0 балла [13.0; 16.0], GA — 15.0 балла [13.0; 16.5],  $p > 0.999$ . В последний 16-й день исследования статистической разницы получено не было: GG — 4.0 балла [2.0; 8.0], GA — 3.0 балла [1.0; 5.0],  $p > 0.999$ . По другим психометрическим шкалам была получена аналогичная динамика в изменении баллов, что и по шкале HamD.

По шкале UKU в 1-й день исследования баллы статистически значимо не отличались у носителей разных генотипов: GG — 1.0 балла [0.0; 1.0], GA — 1.0 балла [0.0; 1.5],  $p > 0.999$ . К 9-му

marker, the following findings were obtained in 96 subjects:

- number of patients with genotype GG — 85 (88.5%);
- number of patients with genotype GA — 11 (11.5%);
- patients with AA genotype were not found.

The distribution of genotypes corresponded to Hardy-Weinberg law for European population ( $\chi^2 = 0.35, p = 0.55$ ).

The results of data analysis performed on psychometric scales (PACS, AVS, CGI, HADS, HamD) and the UKU side effect rating scale in patients taking fluvoxamine on the 1<sup>st</sup>, 9<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> days of the research are presented in Table 1.

The dynamics of change in scores on the HamD and the UKU scales in patients with different genotypes is presented in the Fig. 1. On the HamD scale by the 1<sup>st</sup> day of the study there were no statistically significant differences revealed by the studied polymorphic marker: GG — 23.0 scores [22.0; 24.0], GA — 23.0 scores [22.0; 23.0],  $p > 0.999$ . By the 9<sup>th</sup> day of the research, as on the 1<sup>st</sup> day, no statistically significant difference in carriers of different genotypes was observed: GG — 15.0 scores [13.0; 16.0], GA — 15.0 scores [13.0; 16.5],  $p > 0.999$ . On the last 16<sup>th</sup> day of the research statistically significant difference had not been obtained: GG — 4.0 scores [2.0; 8.0], GA — 3.0 scores [1.0; 5.0],  $p > 0.999$ . On the other psychometric scales the analogous trends in scores as on the HamD scale were obtained.

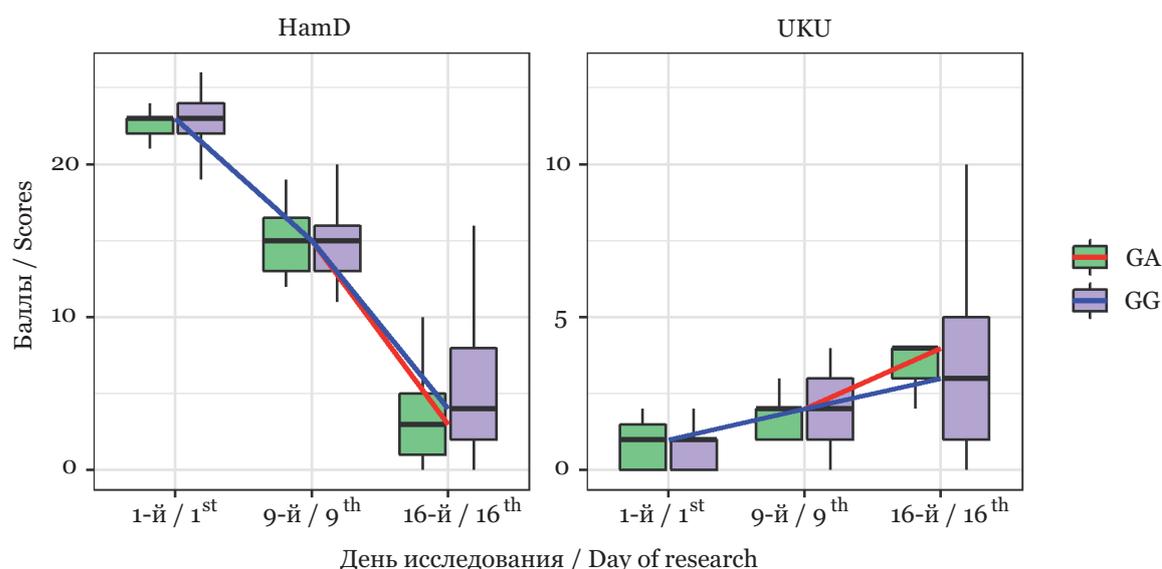
On the UKU scale on the 1<sup>st</sup> day of the study there was no statistically significant difference in scores in carriers of different genotypes: GG — 1.0 scores [0.0; 1.0], GA — 1.0 scores [0.0; 1.5],  $p > 0.999$ . By the 9<sup>th</sup> day of the study there was no statistically significant difference either: GG — 2.0 scores [1.0; 3.0], GA — 2.0 scores [1.0; 2.0],  $p > 0.999$ . Statistically significant difference had not been obtained on the 16<sup>th</sup> day of the research as well: GG — 3.0 scores [1.0; 5.0], GA — 4.0 scores [3.0; 4.0],  $p > 0.999$ .

The study of 99366316G>A polymorphism influence of CYP3A4 (rs35599367) gene on the activity of encoded isoenzyme assessed by means of the 6 $\beta$ -hydroxycortisol/cortisol metabolic ratio demonstrated the presence of statistically significant difference in values of this parameter in patients with different genotypes: GG — 4.32 (a.u.) [3.05; 6.37], GA — 2.64 a.u. [1.84; 3.83],  $p = 0.004$  (Table 2, Fig. 2).

**Таблица 1.** Данные оценки по психометрическим шкалам и шкале оценки побочного действия ЛС у пациентов, получавших флувоксамин, на 1-й, 9-й и 16-й дни исследования, баллы

**Table 1.** The results of psychometric scales and the UKU side effect rating scale data analysis in patients who received fluvoxamine, on the 1<sup>st</sup>, 9<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> days of the research, scores

Шкала / Scale	GG	GA	<i>p</i>
<i>День 1 / Day 1</i>			
PACS	11.0 [10.0; 11.0]	12.0 [11.0; 13.0]	>0.999
ВАШ / VAS	53.0 [49.0; 58.0]	49.0 [46.0; 54.5]	>0.999
CGI	5.0 [5.0; 5.0]	5.0 [4.5; 5.5]	>0.999
HADS	36.0 [32.0; 41.0]	36.0 [31.0; 39.5]	>0.999
HamD	23.0 [22.0; 24.0]	23.0 [22.0; 23.0]	>0.999
UKU	1.0 [0.0; 1.0]	1.0 [0.0; 1.5]	>0.999
<i>День 9 / Day 9</i>			
PACS	7.0 [6.0; 8.0]	7.0 [6.0; 8.0]	>0.999
ВАШ / VAS	30.0 [25.0; 36.0]	32.0 [27.5; 37.0]	>0.999
CGI	3.0 [2.0; 4.0]	3.0 [3.0; 4.0]	>0.999
HADS	24.0 [21.0; 28.0]	22.0 [17.5; 23.5]	>0.999
HamD	15.0 [13.0; 16.0]	15.0 [13.0; 16.5]	>0.999
UKU	2.0 [1.0; 3.0]	2.0 [1.0; 2.0]	>0.999
<i>День 16 / Day 16</i>			
PACS	2.0 [1.0; 4.0]	3.0 [2.0; 4.0]	>0.999
ВАШ / VAS	10.0 [4.0; 16.0]	13.0 [8.5; 23.5]	>0.999
CGI	2.0 [1.0; 3.0]	1.0 [0.5; 1.0]	>0.999
HADS	4.0 [2.0; 6.0]	6.0 [1.5; 6.5]	>0.999
HamD	4.0 [2.0; 8.0]	3.0 [1.0; 5.0]	>0.999
UKU	3.0 [1.0; 5.0]	4.0 [3.0; 4.0]	>0.999



**Рис. 1.** Изменение баллов по шкалам HamD и UKU у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367) (синяя и красная линии соединяют медианы в разные дни исследования)

**Fig. 1.** Dynamics in scores on the HamD and the UKU scales in patients with different genotypes by 99366316G>A polymorphic marker of *CYP3A4* (rs35599367) gene (blue and red lines join the medians of different days)

**Таблица 2.** Значения кортизола, 6 $\beta$ -ГК и отношения 6 $\beta$ -ГК/К у пациентов с разными генотипами  
**Table 2.** Cortisol and 6 $\beta$ -HC values and the 6 $\beta$ -HC/C ratio in patients with different genotypes

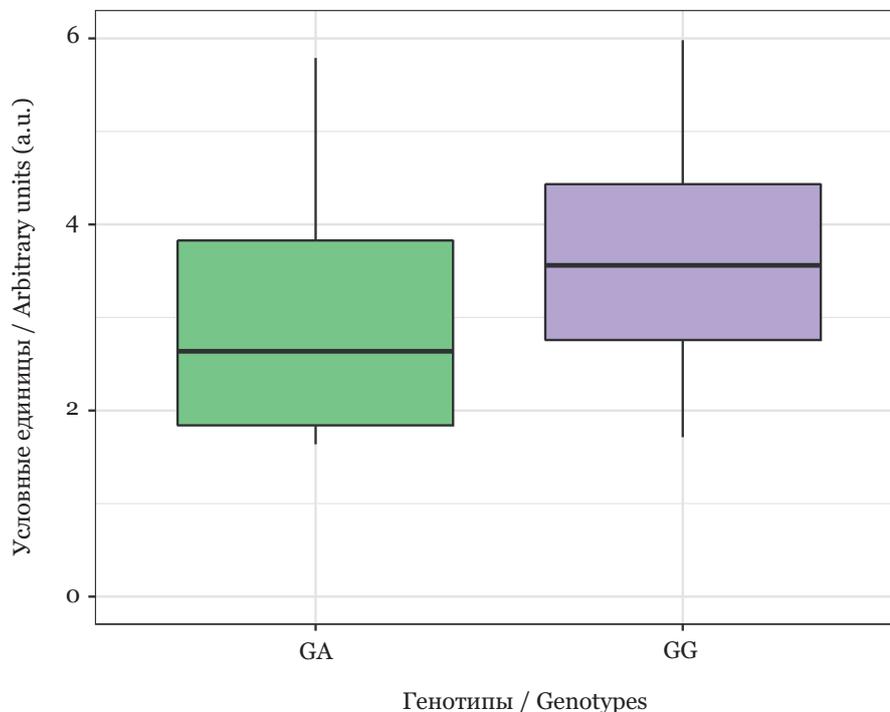
Показатель / Parameter	GG	GA	<i>p</i>
6 $\beta$ -ГК/К (усл. ед.) / 6 $\beta$ -НС/С (a.u.)	4.32 [3.05; 6.37]	2.64 [1.84; 3.83]	0.004
Кортизол (нг/мл) / Cortisol (ng/ml)	601.29 [431.46; 818.94]	572.01 [424.68; 719.13]	0.479
6 $\beta$ -ГК (нг/мл) / 6 $\beta$ -НС (ng/ml)	2541.75 [1904.36; 4106.66]	1522.70 [966.51; 2652.38]	0.011

дню также не было статистически значимой разницы: GG — 2.0 балла [1.0; 3.0], GA — 2.0 балла [1.0; 2.0],  $p > 0.999$ . Статистически значимая разница не была получена и на 16-й день терапии: GG — 3.0 балла [1.0; 5.0], GA — 4.0 балла [3.0; 4.0],  $p > 0.999$ .

Изучение влияния полиморфизма 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367) на активность кодируемого изофермента, оцененную с помощью метаболического отношения 6 $\beta$ -гидрооксикортизол/кортизол, показало наличие статистически значимой разницы в значениях данного показателя у пациентов с разными генотипами: GG — 4.32 усл. ед. [3.05; 6.37], GA — 2.64 усл. ед. [1.84; 3.83],  $p = 0.004$  (табл. 2, рис. 2).

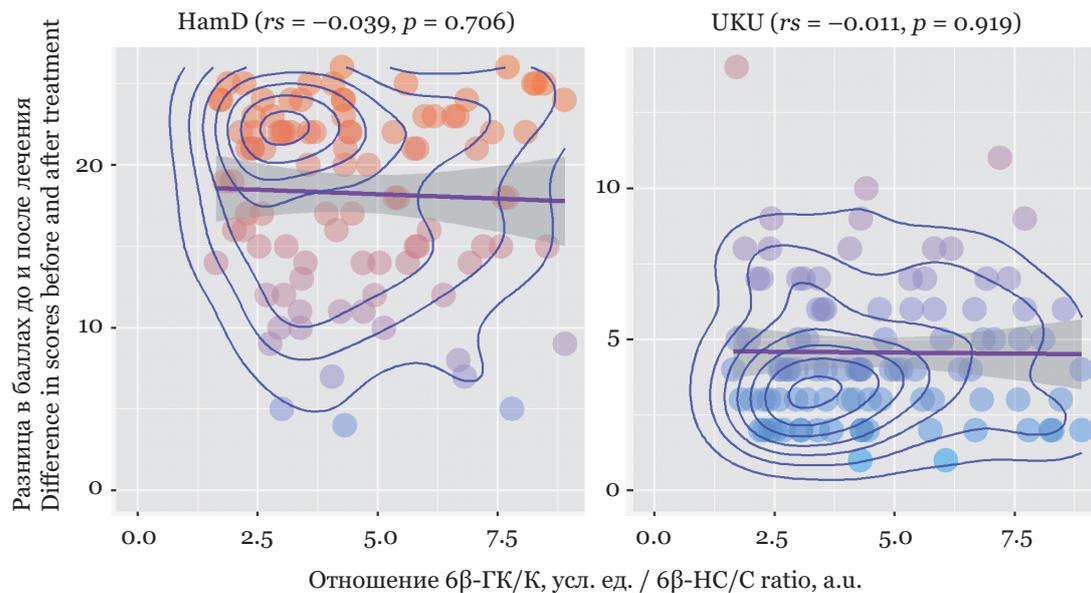
На рис. 3 представлена корреляционная связь между разницей в количестве баллов по шкале HamD и активностью CYP3A, оценен-

Fig. 3 shows the correlation between the difference in score number on the HamD scale and CYP3A activity estimated using the 6 $\beta$ -hydroxycortisol/cortisol metabolic ratio. The calculation of the Spearman correlation coefficient ( $r_s$ ) demonstrated the presence of statistically nonsignificant inverse correlation of low power between the fluvoxamine efficacy profile and CYP3A activity ( $r_s = -0.039$ ,  $p = 0.706$ ). The analysis of correlation between difference in score number on the UKU scale and CYP3A activity estimated using the 6 $\beta$ -hydroxycortisol/cortisol metabolic ratio demonstrated the presence of inverse correlation. But at the same time, as in the case with the results obtained when analyzing the correlation with the efficacy parameter the correlation coefficient was statistically nonsignificant ( $r_s = -0.011$ ,  $p = 0.919$ ) (see Fig. 3).



**Рис. 2.** Разница в показателе активности CYP3A, оцененной с помощью метаболического отношения у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367)

**Fig. 2.** Difference in CYP3A activity parameter estimated by means of the metabolic ratio in patients with different genotypes by 99366316G>A polymorphic marker of *CYP3A4* (rs35599367) gene



**Рис. 3.** Связь активности СУРЗА, оцененной с помощью метаболического отношения 6β-ГК/К, с разницей в количестве баллов по шкалам HAM-D и UKU у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью (круговые синие линии — наиболее сконцентрированные объекты (оценка удаленности проведена методом наименьших квадратов); фиолетовые горизонтальные линии — графическое отображение уравнения линейной регрессии)

**Fig. 3.** The correlation between CYP3A activity estimated by means of the 6β-HC/C metabolic ratio and difference in scores on the HAM-D and the UKU scales in patients with comorbid depressive disorders and alcohol use disorder (blue curved lines — the most concentrated objects (remoteness was estimated by the method of least squares); violet horizontal lines — graphical presentation of linear regression equation)

ной с помощью метаболического отношения 6β-гидрокортизол/кортизол. Расчет коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ) показал наличие статистически незначимой обратной корреляции слабой силы между профилем эффективности флувоксамина и активностью СУРЗА ( $r_s = -0.039$ ,  $p = 0.706$ ). Анализ связи между разницей в количестве баллов по шкале UKU и активностью СУРЗА, оцененной с помощью метаболического отношения 6-бета-гидрокортизол/кортизол, показал наличие обратной корреляции. Но при этом, как и в случае с результатами, полученными при анализе связи с показателем эффективности, коэффициент корреляции был статистически незначимым ( $r_s = -0.011$ ,  $p = 0.919$ ) (рис. 3).

Статистический анализ данных профиля клинической эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367) показал отсутствие статистически значимых различий ( $p > 0.999$ ). Это может говорить о том, что данный полиморфный маркер не оказывает влияния на клиническую эффективность и безопасность терапии пациентов изучаемой группы.

Statistical analysis of data on the clinical efficacy and safety profile of fluvoxamine in patients with different genotypes by polymorphic 99366316G>A marker of *CYP3A4* (rs35599367) gene demonstrated the absence of statistically significant differences ( $p > 0.999$ ). This may evidence the absence of the influence of this polymorphic marker on clinical efficacy and safety of therapy in patients of the studied group.

Analyzing the correlation between the clinical efficacy profile of fluvoxamine therapy (score dynamics on the HamD scale) and the safety profile (score dynamics on the UKU scale), and CYP3A activity estimated by the metabolic 6β-HC/C ratio we did not reveal statistically significant association between these parameters ( $r_s = -0.039$ ,  $p = 0.706$  and  $r_s = -0.011$ ,  $p = 0.919$  respectively). Interestingly, the assessment of results of pharmacometabolomic research, namely the comparison of CYP3A activity estimated by means of metabolic 6β-HC/C ratio in patients with different genotypes by polymorphic 99366316G>A marker of *CYP3A4* (rs35599367) gene, demonstrated the presence of statistically significant difference in values of this parameter ( $p = 0.004$ ), i.e., the results of this study once more

Анализируя связь между профилем клинической эффективности терапии флувоксамином (динамика баллов по шкале HamD) и профилем безопасности (динамика баллов по шкале UKU) и активностью CYP3A, оцененной по метаболическому отношению 6-бета-гидрокортизол/кортизол, мы не выявили статистически значимой ассоциации между данными показателями ( $r_s = -0.039$ ,  $p = 0.706$  и  $r_s = -0.011$ ,  $p = 0.919$  соответственно). Интересно отметить, что изучение результатов фармакометаболического исследования, а конкретно сопоставление показателя активности CYP3A, оцененного с помощью метаболического отношения 6 $\beta$ -ГК/К у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367), показало наличие статистически значимой разницы в значениях данного показателя ( $p = 0.004$ ), т. е. результаты данного исследования еще раз подтверждают возможность использования данного маркера для оценки активности CYP3A.

Таким образом, исходя из полученных результатов о том, что полиморфизм 99366316G>A гена *CYP3A4* (rs35599367) не оказывает влияния на эффективность и безопасность терапии флувоксамином у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, возможно предположить, что перед назначением флувоксамина пациентам данной категории учитывать результаты генотипирования по локусам данного гена не нужно. В то же время при назначении флувоксамина необходимо принимать во внимание полиморфизм гена *CYP2D6*, так как показано, что он может оказывать влияние на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов данной категории [16, 17].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании, проведенном в группе из 96 пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, было

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boschloo L., Vogelzangs N., Smit J.H. et al. Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA) // *J. Affect. Disord.* 2011. Vol. 131 (1–3). P. 233–242.
2. Gautam S., Jain A., Gautam M., Vahia V.N., Grover S. Clinical practice guidelines for the management of depression // *Ind. J. Psychiatry.* 2017. Vol. 59. P. 34–50. doi: 10.4103/0019-5545.196973.

confirm the applicability of this marker for the CYP3A activity estimation.

Thus, based on the obtained results of 99366316G>A polymorphism of *CYP3A4* (rs35599367) gene not influencing the efficacy and safety of fluvoxamine therapy in patients with comorbid depressive disorders and alcohol dependence we may assume that there is no need to take into account the results of genetic typing by locus of this gene before fluvoxamine administration to the patients of this category. At the same time, when administering the fluvoxamine, it is essential to take into account the polymorphism of *CYP2D6* gene since it has been shown to influence the efficacy and safety profile of fluvoxamine in the patients of this category [16, 17].

## CONCLUSION

In the study conducted in the group of 96 patients with comorbid depressive disorders and alcohol use disorder the absence of influence of CYP3A activity on the parameters of fluvoxamine efficacy and safety profile was demonstrated.

**Funding source.** The study was carried out at the Russian Scientific Foundation grant's expense (project No. 18-75-10073).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

продемонстрировано отсутствие влияния активности CYP3A на показатели профиля эффективности и безопасности флувоксамина.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-75-10073).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## REFERENCES

1. Boschloo L., Vogelzangs N., Smit J.H. et al. (2011). Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J. Affect. Disord.*, 131 (1–3), 233–242.
2. Gautam S., Jain A., Gautam M., Vahia V.N., Grover S. (2017). Clinical practice guidelines for the management of depression. *Ind. J. Psychiatry*, 59 (1), 34–50. doi: 10.4103/0019-5545.196973.

3. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J. Clinical application of pharmacogenetics // *Trends Mol. Med.* 2001. Vol. 7 (5). P. 201–204. PMID: 11325631.
4. Williams P.A., Cosme J., Vinkovic D.M. et al. Crystal structures of human cytochrome P450 3A4 bound to metyrapone and progesterone // *Science*. 2004 Jul 30. Vol. 305 (5684). P. 683–686.
5. Klein K., Zanger U.M. Pharmacogenomics of cytochrome P450 3A4: recent progress toward the “missing heritability” problem // *Front. Genet.* 2013. Vol. 4: 12. Published online 2013 Feb 25. doi: 10.3389/fgene.2013.00012.
6. Lee J.S., Cheong H.S., Kim L.H. et al. Screening of genetic polymorphisms of *CYP3A4* and *CYP3A5* genes // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2013 Dec. Vol. 17 (6). P. 479–484. doi: 10.4196/kjpp.2013.17.6.479.
7. Van Schaik R.H. Dose adjustments based on pharmacogenetics of CYP450 enzymes // *EJIFCC*. 2008 Apr. Vol. 19 (1). P. 42–47.
8. Flannery B.A., Volpicelli J.R., Pettinati H.M. Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1999. Vol. 23 (8). P. 1289–1295.
9. Busner J., Targum S.D. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice // *Psychiatry (Edgmont)*. 2007 Jul. Vol. 4 (7). P. 28–37.
10. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale // *Acta Psychiatr. Scand.* 1983 Jun. Vol. 67 (6). P. 361–370.
11. Hamilton M. A rating scale for depression // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1960 Feb. Vol. 23. P. 56–62.
12. Lingjaerde O., Ahlfors U.G., Bech P., Dencker S.J., Elgen K. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients // *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* 334. 1987. Vol. 76. P. 1–100.
13. Lutz U., Bittner N., Ufer M., Lutz W.K. Quantification of cortisol and 6 beta-hydroxycortisol in human urine by LC-MS/MS, and gender-specific evaluation of the metabolic ratio as biomarker of CYP3A activity // *J. Chromatogr. B*. 2010 Jan 1. Vol. 878 (1). P. 97–101. doi: 10.1016/j.jchromb.2009.11.023.
14. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Ryzhikova K.A. et al. The influence of CYP3A5 polymorphisms on haloperidol treatment in patients with alcohol addiction // *Pharmacogenomics Pers. Med.* 2017 Dec 28. Vol. 11. P. 1–5. doi: 10.2147/PGPM.S144503.
15. Sychev D.A., Zastrozhin M.S., Miroshnichenko I.I. et al. Genotyping and phenotyping of CYP2D6 and CYP3A isoenzymes in patients with alcohol use disorder: correlation with haloperidol plasma concentration // *Drug Metab. Pers. Ther.* 2017 Sep 26. Vol. 32 (3). P. 129–136. doi: 10.1515/dmpt-2017-0021.
16. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Denisenko N.P. et al. Effects of CYP2D6 genetic polymorphisms on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorder and comorbid alcohol use disorder // *Pharmacogenomics Pers. Med.* 2018 Jun 29. Vol. 11. P. 113–119. doi: 10.2147/PGPM.S160763.
17. Zastrozhin M.S., Sorokin A.S., Agibalova T.V. et al. Using a personalized clinical decision support system for bromdihydrochlorphenylbenzodiazepine dosing in patients with anxiety disorders based on the pharmacogenomic markers // *Hum. Psychopharmacol.* 2018 Nov. Vol. 33 (6): e2677. doi: 10.1002/hup.2677.
3. Spear B.B., Heath-Chiozzi M., Huff J. (2001). Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol. Med.*, 7 (5), 201–204. PMID: 11325631.
4. Williams P.A., Cosme J., Vinkovic D.M. et al. (2004). Crystal structures of human cytochrome P450 3A4 bound to metyrapone and progesterone. *Science*, 305 (5684), 683–686.
5. Klein K., Zanger U.M. (2013). Pharmacogenomics of cytochrome P450 3A4: recent progress toward the “missing heritability” problem. *Front. Genet.*, 4, 12. doi: 10.3389/fgene.2013.00012.
6. Lee J.S., Cheong H.S., Kim L.H. et al. (2013). Screening of genetic polymorphisms of *CYP3A4* and *CYP3A5* genes. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 17 (6), 479–484. doi: 10.4196/kjpp.2013.17.6.479.
7. Van Schaik R.H. (2008, Apr). Dose adjustments based on pharmacogenetics of CYP450 enzymes. *EJIFCC*, 19 (1), 42–47.
8. Flannery B.A., Volpicelli J.R., Pettinati H.M. (1999). Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 23 (8), 1289–1295.
9. Busner J., Targum S.D. (2007, Jul). The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont)*, 4 (7), 28–37.
10. Zigmond A.S., Snaith R.P. (1983, Jun). The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr. Scand.*, 67 (6), 361–370.
11. Hamilton M. (1960). A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 23, 56–62.
12. Lingjaerde O., Ahlfors U.G., Bech P., Dencker S.J., Elgen K. (1987). The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.*, 334, 76, 1–100.
13. Lutz U., Bittner N., Ufer M., Lutz W.K. (2010, Jan 1). Quantification of cortisol and 6 beta-hydroxycortisol in human urine by LC-MS/MS, and gender-specific evaluation of the metabolic ratio as biomarker of CYP3A activity. *J. Chromatogr. B.*, 878 (1), 97–101. doi: 10.1016/j.jchromb.2009.11.023.
14. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Ryzhikova K.A. et al. (2017, Dec 28). The influence of CYP3A5 polymorphisms on haloperidol treatment in patients with alcohol addiction. *Pharmacogenomics Pers. Med.*, 11, 1–5. doi: 10.2147/PGPM.S144503.
15. Sychev D.A., Zastrozhin M.S., Miroshnichenko I.I. et al. (2017, Sep 26). Genotyping and phenotyping of CYP2D6 and CYP3A isoenzymes in patients with alcohol use disorder: correlation with haloperidol plasma concentration. *Drug Metab. Pers. Ther.*, 32 (3), 129–136. doi: 10.1515/dmpt-2017-0021.
16. Zastrozhin M.S., Grishina E.A., Denisenko N.P. et al. (2018, Jun 29). Effects of CYP2D6 genetic polymorphisms on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorder and comorbid alcohol use disorder. *Pharmacogenomics Pers. Med.*, 11, 113–119. doi: 10.2147/PGPM.S160763.
17. Zastrozhin M.S., Sorokin A.S., Agibalova T.V. et al. (2018, Nov). Using a personalized clinical decision support system for bromdihydrochlorphenylbenzodiazepine dosing in patients with anxiety disorders based on the pharmacogenomic markers. *Hum. Psychopharmacol.*, 33 (6), e2677. doi: 10.1002/hup.2677.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Застрожин Михаил Сергеевич** — канд. мед. наук, руководитель лаборатории генетики и фундаментальных исследований ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы; доцент кафедры наркологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва).

**Смирнов Валерий Валерьевич** — канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первый Московский государственный университет имени И.М. Сеченова Минздрава России; заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва).

**Застрожина Анастасия Константиновна** — ассистент кафедры педиатрии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва).

**Гришина Елена Анатольевна** — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

**Рыжикова Кристина Анатольевна** — научный сотрудник отдела молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

**Скрябин Валентин Юрьевич** — заведующий 16-м наркологическим отделением ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы.

**Шипицын Валерий Валерьевич** — заместитель директора по медицинской части ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы.

**Брюн Евгений Алексеевич** — д-р мед. наук, профессор, президент ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии» Департамента здравоохранения г. Москвы; заведующий кафедрой наркологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва).

**Сычев Дмитрий Алексеевич** — чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, профессор, профессор РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии, ректор ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва).

**Образец цитирования:** Застрожин М.С., Смирнов В.В., Застрожина А.К., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Скрябин В.Ю., Шипицын В.В., Брюн Е.А., Сычев Д.А. Оценка влияния активности СYP3A на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 65–75.

**ABOUT THE AUTHORS**

**Zastrozhin Mikhail Sergeevich** — Cand. Sci. (Med.), Head, Laboratory of Genetics and Basic Research, Moscow Research and Practical Centre for Narcology; Associate Professor, Drug Addiction Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Smirnov Valeriy Valeryevich** — Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Head, Laboratory of Pharmacokinetics, National Research Center — Institute of Immunology (Moscow).

**Zastrozhina Anastasiya Konstantinovna** — Assistant, Pediatrics Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Grishina Elena Anatolyevna** — Dr. Sci. (Biol.), Lead Researcher, Molecular Medicine Division, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Ryzhikova Kristina Anatolyevna** — Researcher, Molecular Medicine Division, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Skryabin Valentin Yuryevich** — Head, 16<sup>th</sup> Drug Addiction Unit, Moscow Research and Practical Centre for Narcology.

**Shipitsyn Valeriy Valeryevich** — Deputy Medical Director, Moscow Research and Practical Centre for Narcology.

**Bryun Evgeniy Alekseyevich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, President, Moscow Research and Practical Centre for Narcology; Head, Drug Addiction Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Sychev Dmitriy Alekseyevich** — Corresponding Member (Russian Academy of Sciences), Dr. Sci. (Med.), Professor (Russian Academy of Sciences), Professor, Head, Clinical Pharmacology and Therapy Department, Rector, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (Moscow).

**Citation example:** Zastrozhin M.S., Smirnov V.V., Zastrozhina A.K., Grishina E.A., Ryzhikova K.A., Skryabin V.Yu., Shipitsyn V.V., Bryun E.A., Sychev D.A. (2020). The estimation of influence of CYP3A activity on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorders comorbid with alcohol use disorder. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 65–75.

## Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов

Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

## A rationale for application of immobilized subtilisines for target therapy of venous thrombosis

Mishenina S.V., Baykalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G.

Novosibirsk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

Для определения эффективности и безопасности лекарственного препарата на основе иммобилизованного субтилизина (СУБТ) проведены экспериментальные (с использованием крыс-самцов линии Wistar и Balb/C) и клиническое (VETTER-1 — Venous Thrombosis Therapy) исследования. Экспериментальные исследования показали прямое тромболитическое действие СУБТ на 1-, 2- и 24-часовые тромбы (*in vitro*) и отсутствие локальных изменений у крыс с κ-каррагинановым тромбозом (*in vivo*). В ходе клинического исследования у пациентов, получавших СУБТ, увеличение кровотока на 5 % от исходного либо реканализацию вены наблюдали в 1.5–1.6 раза чаще по сравнению с пациентами, получавшими плацебо.

Таким образом, лекарственный препарат на основе СУБТ может быть использован в терапии венозных тромбозов.

**Ключевые слова:** иммобилизованные субтилизины, венозные тромбозы, тромболитическая терапия.

### ABSTRACT

To determine the efficacy and safety of the drug based on immobilized subtilisin (SUBT), we conducted experimental (using Wistar and Balb/C male rats) and clinical (VETTER-1 — Venous Thrombosis Therapy) studies. Experimental studies have shown the direct thrombolytic effect of SUBT on 1-, 2- and 24-hour blood clots (*in vitro*) and the absence of local changes in rats with κ-carrageenan-induced thrombosis (*in vivo*). In a clinical study, patients receiving SUBT showed an increase in blood flow by 5% from the initial, or recanalization of a vein which was observed 1.5–1.6 times more often than in patients receiving placebo.

Thus, a drug based on SUBT can be used in the treatment of venous thrombosis.

**Keywords:** immobilized subtilisins, venous thrombosis, thrombolytic therapy.

### ВВЕДЕНИЕ

Тромбозы и антитромботическая терапия являются одним из актуальных и до конца не разрешенных вопросов в современной медицине. Патогенез развития тромбоза описан в классической триаде Вирхова: замедление тока крови, гиперкоагуляция и повреждение эндотелия, однако эта теория дает представление о тромбозе

### INTRODUCTION

Thrombosis and antithrombotic therapy are one of the urgent and unresolved issues in modern medicine. The classic Virchow's triad describes the pathogenesis of thrombosis as slowed blood flow, hypercoagulation and endothelial damage. However, to a greater extent this theory gives an idea of blood clot formation *in vitro*. Cell-based model

Поступила 17.12.2019  
Принята 17.01.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Мишенина Светлана Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: m-svetlana@ngs.ru

Received 17.12.2019  
Accepted 17.01.2019

\*Corresponding author  
Mishenina Svetlana Vladimirovna: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: m-svetlana@ngs.ru

образовании в большей степени *in vitro*. Клеточная теория гемостаза [1] дополняет теорию Вирхова и дает развернутое представление о взаимодействии всех звеньев гемостаза, а значит, характеризует гемостаз и *in vivo* [2, 3].

Антикоагулянтная терапия и фармакологический тромболитический являются основой для успешного лечения тромботических нозологий. Эти две фармакологические технологии должны основываться на соблюдении баланса между эффективным и быстрым разрешением тромбоза и риском кровотечений. Применение системных активаторов плазминогена (САП) неизбежно приводит к нескольким биохимическим процессам, которые являются негативными и формируют ограничения для применения метода тромболитического. САП вызывают истощение плазминогена плазмы, гидролитическое расщепление плазмином белковых факторов свертывания крови, а также тормозят фибринолиз продуктами деградации фибрина за счет конкурентного ингибирования плазмина по принципу отрицательной обратной связи [4, 5]. В силу многообразия клинических ситуаций бывает трудно стратифицировать риск как тромбоэмболических осложнений, так и кровотечений. Более того, некоторые факторы риска тромбоэмболических осложнений одновременно увеличивают риск кровотечений [6]. Вариабельность эффекта тромболитиков и антикоагулянтов обусловлена состоянием организма, сопутствующими заболеваниями, диетическими пристрастиями, принимаемыми препаратами и в очень большой степени генетическими особенностями больного [7–10]. Вопрос создания и внедрения в практику препарата для лечения тромбоза, который сохранял бы все преимущества традиционных тромболитиков и обладал бы большей предсказуемостью и безопасностью, стоит остро и перед разработчиками лекарственных средств, и перед практическими врачами.

В настоящее время сложились реальные предпосылки к решению этой проблемы. Возможность неплазминового фибринолиза открывает энзимотерапия, которая становится все более распространенной в медицине: многие ферменты оказывают фибринолитическое действие и могут быть перспективными для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, инсультов, тромбоза, эмболии и т. д.

Обнаружение мощного фибринолитического фермента наттокиназы (nattokinase) выявило новые возможности более безопасного лечения тромбоза. Этот фермент используется в традиционном японском ферментированном продукте

of hemostasis [1] complements Virchow's theory and gives a detailed picture of the interaction of all components of hemostasis, and thus characterizes hemostasis *in vivo* as well [2, 3].

Anticoagulant therapy and pharmacologic thrombolysis are the basis for the successful treatment of thrombotic diseases. These two pharmacologic technologies should be based on a balance between the effective and rapid resolution of thrombosis and the risk of bleeding. Use of systemic plasminogen activators (SPAs) inevitably results in several negative biochemical processes that restrict thrombolysis application. SPAs cause depletion of plasma plasminogen, hydrolytic cleavage of plasma protein coagulation factors by plasmin, and also inhibit fibrinolysis by fibrin degradation products due to competitive inhibition of plasmin by the principle of negative feedback [4, 5]. Due to the variety of clinical situations, it is difficult to stratify the risk of both thromboembolic complications and bleeding. Moreover, some risk factors for thromboembolic complications simultaneously increase the risk of bleeding [6]. The variability of the thrombolytics and anticoagulants effect is due to the state of the body, comorbidities, eating habits, drugs taken and, to a considerable extent, the patient's genetic characteristics [7–10]. The issue of creating and putting into practice a drug for the treatment of thrombosis, which would preserve all the advantages of traditional thrombolytics and have greater predictability and safety, is an acute issue for drug developers and practitioners.

Currently, there are real prerequisites for solving this problem. The enzyme therapy, which is becoming increasingly common in medicine, creates the possibility of non-plasmin fibrinolysis: many enzymes have a fibrinolytic effect and can be promising for the treatment of cardiovascular diseases, strokes, thrombosis and embolism.

The discovery of the potent fibrinolytic enzyme (nattokinase) has revealed new possibilities for safer treatment of thrombosis. This enzyme contained in the traditional Japanese fermented product Natto has been known to the Japanese for a hundred years as a nutritious and healing food. Indeed, food, especially fermented, is considered one of the many sources of fibrinolytic enzymes. This discovery motivated an active search for such microorganisms in traditional (Asian) fermented foods. Studies of microorganisms producing fibrinolytic enzymes from various Asian traditional fermented foods have also shown that these

Natto, известном японцам на протяжении столетий как питательная и целебная пища. Действительно, пища, особенно ферментированная, считается одним из многочисленных источников фибринолитических ферментов. Это открытие мотивировало активный поиск подобных микроорганизмов в традиционной (азиатской) ферментированной еде. Исследования микроорганизмов, продуцирующих фибринолитические ферменты из различных азиатских традиционных ферментированных пищевых продуктов, также показали, что эти микроорганизмы в основном принадлежали к виду *Bacillus subtilis* [11].

В российской и международной научной литературе можно найти достаточно публикаций о возможной терапевтической значимости применения субтилизинов и подобных им ферментов для лечения инсультов, инфарктов, тромбозов [12–14]. Признание всей мировой медицинской общественностью уникальных терапевтических свойств субтилизинов сейчас можно рассматривать как свершившийся факт.

Главная проблема создания препарата на основе субтилизинов заключалась в том, чтобы сохранялась ферментативная активность и устранялось аллергическое и иммунотоксическое действие. Метод иммобилизации фармакологически активных веществ на инертных носителях, низкомолекулярных полимерах, с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза позволяет значительно снизить опасность осложнений и повысить биодоступность и эффективность препаратов [15].

У иммобилизованных на полимерных носителях препаратов, например конъюгированных с полиэтиленоксидом молекул, изменяются фармакокинетические параметры, что может также улучшать вторичные фармакодинамические свойства. Химическая иммобилизация белковых веществ в ряде случаев с успехом может быть заменена технологией электронно-лучевой иммобилизации, значительно снижающей себестоимость лекарственных препаратов [16].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести экспериментальное (*in vitro* и *in vivo*), а также клиническое исследование для определения эффективности и безопасности препарата на основе иммобилизованного субтилизина для лечения острых венозных тромбозов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения прямого тромболитического действия иммобилизованного субтилизи-

microorganisms mainly belong to species of *B. subtilis* [11].

There are enough research publications both in Russia, and worldwide on the possible therapeutic significance of subtilisins and similar enzymes for the treatment of strokes, infarctions, and thrombosis [12–14]. The worldwide medical community recognition of the unique therapeutic properties of subtilisins is a reality.

How to retain the enzymatic activity of the drug based on the subtilisin and eliminate its allergenic and immunotoxic effects is the main problem of drug development. Immobilization of pharmacologically active substances using inactive carriers, low molecular weight polymers by using nanotechnology of electron-beam synthesis can reduce the risk of complications significantly and increase the bioavailability and efficacy of the drug [15].

In drugs immobilized on polymer-carriers, for example, molecules conjugated with polyethylene oxide, the pharmacokinetic parameters change and this may improve the secondary pharmacodynamics. In some cases, chemical immobilization of protein substances can be successfully replaced by electron-beam immobilization, which significantly reduces the cost of drugs [16].

## AIM OF THE RESEARCH

To conduct experimental (*in vitro* and *in vivo*) and clinical studies to determine the efficacy and safety of immobilized subtilisin drug for the treatment of acute venous thromboses.

## MATERIALS AND METHODS

To study the direct thrombolytic effect of immobilized subtilisin (SUBT) *in vitro*, we used 20 Wistar male rats aged 5 months (10 animals both in the experimental and in the control groups). All animals were kept under natural light on a standard diet with free access to food and water. The research was carried out following the rules adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986) and the Guidelines for the Preclinical Studies of Medicines, ed. by A.N. Mironov (Moscow, 2012). The same amount of blood was taken from experimental animals under ether anesthesia from the tail vein into Eppendorf tubes, in which blood clots were formed further for 1, 2, and 24 hours. The resulting thrombi weighting  $0.4 \pm 0.02$  g were put into a glass container included in a closed system. In order to study the thrombolytic activity of SUBT, we developed a test facility,

на (СУБТ) *in vitro* использовали 20 крыс-самцов линии Wistar в возрасте 5 мес (по 10 животных в экспериментальной и контрольной группах). Все животные содержались при естественном освещении на стандартном рационе при свободном доступе к корму и воде. Исследование было выполнено в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. А.Н. Мирнова (М., 2012). У животных опытной группы под эфирным наркозом из хвостовой вены забирали одинаковое количество крови в пробирки Эппендорфа, в которых происходило дальнейшее формирование тромбов в течение 1, 2 и 24 ч. Образовавшиеся тромбы массой  $0.4 \pm 0.02$  г переносили в стеклянную емкость, входящую в замкнутую систему. Для исследования тромболитической активности СУБТ была создана экспериментальная установка, представляющая собой замкнутую систему силиконовых трубок со стеклянной емкостью (в нее помещали тромб), подключенную к перфузионному насосу (перфузомат) Gilson Minipuls 2. В ходе эксперимента перфузомат со скоростью 24 мл/мин прокачивал СУБТ, растворенный в 100 мл 0.9% раствора хлорида натрия с концентрацией 2.4 ЕД/мл через стеклянную емкость с тромбом. Создаваемый давлением перфузомата поток жидкости не приводил к механическому разрушению тромба, происходило его омывание со всех сторон. Раствор СУБТ в 0.9% растворе хлорида натрия подогревался до 37 °С, что моделировало температурное состояние крови в условиях физиологического кровообращения. В ходе исследования в период 0–135 мин определяли массу тромба каждые 15 мин. В контрольной группе животных проводился аналогичный эксперимент, только без растворения СУБТ в 0.9% р-ре хлорида натрия.

Статистическая обработка результатов включала подсчет среднеарифметических значений ( $M$ ) и их ошибки ( $m$ ). Для выявления достоверности полученных значений применяли тест множественных сравнений Дункана (Duncan's test, ANOVA). В работе использовали пакет компьютерных программ STATISTICA (версия 6.0).

*Экспериментальное исследование тромболитического действия СУБТ in vivo* проведено с использованием модели тромбоза, индуцированного  $\kappa$ -каррагинаном. После инъекции  $\kappa$ -каррагинана изменяются коагуляционные параметры крови — снижается протромбиновое и активированное частичное тромбопластиновое

which was a closed system of silicone tubes with a glass container (a thrombus was placed in it) connected to a Gilson Minipuls 2 perfusion pump. In the course of the experiment, at the rate of 24 ml/min, the perfusion pump ran the SUBT dissolved in 100 ml of a 0.9% solution of sodium chloride with a concentration of 2.4 U/ml through a glass container with a thrombus. The fluid flow created by the pump pressure did not lead to mechanical destruction of the thrombus but washed it on all sides. SUBT in a 0.9% sodium chloride solution was heated to 37°C — the simulated blood temperature state under normal physiological conditions of blood circulation. During the study period of 0–135 min we determined the thrombus weight every 15 min. In the control group of animals a similar experiment was carried out, only without dissolving the SUBT in 0.9% sodium chloride solution.

Statistical processing of the results included the calculation of mean values ( $M$ ) and their error ( $m$ ). Duncan's test of multiple comparisons (ANOVA) was used to determine the significance of the obtained values. We used the STATISTICA software package (version 6.0).

*Experimental study of SUBT thrombolytic action in vivo* was carried out using a model of thrombosis induced by  $\kappa$ -carrageenan. After the injection of  $\kappa$ -carrageenan, the coagulation parameters of blood change — prothrombin and activated partial thromboplastin time (APTT) decreases, and the amount of fibrinogen and prothrombin activity increases. All these changes contribute to the formation of a thrombus in the tail veins and arteries [17].

We used 30 male BALB/c mice with a body-weight of 19–21 g. All animals were kept under natural light on a standard diet with free access to food and water. The study was performed in accordance with the rules adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986) and the Guidelines for the Pre-clinical Studies of Medicines, ed. by A.N. Mironov (Moscow, 2012). The mice were randomly assigned to groups; using body weight as a criterion, but provided that the individual value of the mass does not deviate from the average by more than  $\pm 10\%$ . The data (weight and number) of the selected animals were ranked in descending order of weight, with the help of Excel program using an algorithm SORT.

Experiment design: the experimental group included 15 animals with  $\kappa$ -carrageenan-induced thrombosis model (they were intraperitoneally injected with 200  $\mu$ l of SUBT at a rate of 390 U/kg),

время (АЧТВ), при этом возрастает количество фибриногена и протромбиновая активность. Все эти изменения способствуют формированию тромба в хвостовых венах и артериях [17].

В работе использовали 30 мышей-самцов линии Balb/C с массой тела 19–21 г. Все животные содержались при естественном освещении на стандартном рационе при свободном доступе к корму и воде. Исследование было выполнено в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. А.Н. Миронова (М., 2012). Мыши распределены по группам рандомизированно, в качестве критерия была использована масса тела, но при условии, что индивидуальное значение массы не отклоняется от среднего более чем на  $\pm 10\%$ . Данные (масса и номер) отобранных животных ранжированы в порядке убывания массы, с помощью программы Excel с использованием алгоритма SORT.

Дизайн эксперимента: опытная группа — 15 животных с моделью к-каррагинанового тромбоза, которым внутрибрюшинно вводили 200 мкл СУБТ из расчета 390 ЕД/кг, контрольная группа — 15 животных с моделью к-каррагинанового тромбоза, которым внутрибрюшинно вводили 200 мкл физиологического раствора.

*Клиническое исследование эффективности и безопасности применения СУБТ у больных с острым венозным тромбозом.* Основываясь на экспериментальных данных по тромболитическому эффекту, отсутствию токсических и геморрагических осложнений, для определения эффективности СУБТ мы провели клиническое исследование, названное VETTER-1 (Venous Thrombosis Therapy). Дизайн исследования: многоцентровое, рандомизированное, плацебо-контролируемое, двойное слепое исследование лекарственного препарата на основе СУБТ. Оно проходило в двух клинических центрах — Городской клинической больнице № 1 им. Н.И. Пирогова (Москва) и в клинике Южно-Уральского государственного медицинского университета (Челябинск). В исследовании участвовали пациенты (мужчины и женщины) в возрасте 20–75 лет с острым венозным тромбозом (визуализированный тромб венозных сосудов по результатам ультразвукового исследования, поражение от 1 до 4 вен), проходившие курс лечения в указанных выше клинических центрах.

В соответствии с первой версией Протокола исследования (Протокол 1) применялся СУБТ в

the control group — 15 animals with к-carrageenan-induced thrombosis model (they were intraperitoneally injected with 200  $\mu$ l of normal saline).

*A clinical study of the efficacy and safety of the SUBT use in patients with acute venous thrombosis.* Based on the experimental data on the thrombolytic effect, absence of toxic and hemorrhagic complications, we conducted the clinical trial called VETTER-1 (Venous Thrombosis Therapy) in order to determine the SUBT efficacy. Study design: a multicentre, randomised, placebo-controlled, double-blind study of a drug based on SUBT. It took place in two clinical centres — N.I. Pirogov City Clinical Hospital No. 1 (Moscow) and in the Clinic of South Ural State Medical University (Chelyabinsk). The study involved patients (men and women) aged 20–75 years with acute venous thrombosis (venous blood thrombus visualized by ultrasound, lesions of 1 to 4 veins), who underwent treatment in above mentioned clinical centers.

Following the first version of the Research Protocol (Protocol 1) the SUBT was used in the form of flat-round tablets with a bevel and breaking line, light yellow in color with possible marbling, with smooth surface, 12 mm in diameter. According to the second version of the Research Protocol (Protocol 2), we used hard gelatin capsules with white bodies and dark pink caps, the contents of the capsules were powder from white with a tan to light brown colour.

**Drug formulation:** the 0.6 g tablet contains SUBT — a highly purified enzyme preparation, obtained as a result of proteinase-subtilisin immobilization with polyethylene oxide — 200 IU (0.210 g); adjuvants — potato starch (0.348 g), microcrystalline cellulose (0.090 g), sodium chloride (0.009 g). One capsule contained 800 IU of the active substance.

In Protocol 1, patients were divided as follows: the experimental group consisted of 25 individuals, the control group — of 24 individuals. The experimental group received SUBT in tablets, 1600 IU a day (4 tablets, twice a day) for 15 days along with the conventional therapy for thrombosis and chronic venous insufficiency. The control group received a placebo (4 tablets, twice a day) for 15 days in addition to the conventional treatment for thrombosis and chronic venous insufficiency.

In Protocol 2, patients were divided into three groups: the control group (35 people) — patients with standard therapy of thrombosis, receiving placebo — 3 capsules, twice a day for 10 days; the

виде плоскоцилиндрических таблеток с фаской и одной риской, светло-желтого цвета, с возможной мраморностью, с гладкой поверхностью, диаметром 12 мм. Согласно второй версии Протокола исследования (Протокол 2) использовались твердые желатиновые капсулы с корпусом белого цвета и крышечкой темно-розового цвета, содержимое капсул — порошок от белого с желтовато-коричневым оттенком до светло-коричневого цвета.

Состав препарата: таблетка 0.6 г содержит СУБТ — высокоочищенный ферментный препарат, получаемый в результате иммобилизации на полиэтиленоксиде протеиназ-субтилизин — 200 ЕД (0.210 г); вспомогательные вещества: крахмал картофельный (0.348 г), целлюлоза микрокристаллическая МКЦ-П (0.090 г), натрий хлорид (0.009 г). Одна капсула содержала 800 ЕД активного вещества.

В Протоколе 1 пациенты распределились следующим образом: опытная группа — 25 чел., группа контроля — 24 чел. Опытная группа получала СУБТ в таблетках в дозе 1600 ЕД в сутки (по 4 табл. 2 раза в день) в течение 15 дней на фоне общепринятой терапии тромбоза и хронической венозной недостаточности. Группа контроля получала плацебо (4 табл. 2 раза в день) в течение 15 дней на фоне общепринятого лечения тромбозов и хронической венозной недостаточности.

В Протоколе 2 пациенты были разделены на три группы: 1) группа контроля (35 чел.) — пациенты на фоне стандартной терапии тромбоза, получавшие препарат плацебо — по 3 капс. 2 раза в день на протяжении 10 дней; 2) группа «СУБТ 3200 ЕД/сут» (32 чел.) — пациенты на фоне стандартной терапии тромбоза получали СУБТ в суточной дозе 3200 ЕД — по 3 капс. (2 капсулы СУБТ 800 ЕД + 1 капс. плацебо) 2 раза в день на протяжении 10 дней; 3) группа «СУБТ 4800 ЕД/сут» (34 чел.) — пациенты на фоне стандартной терапии тромбоза получали препарат в суточной дозе 4800 ЕД — по 3 капс. (все капсулы содержали СУБТ 800 ЕД) 2 раза в день на протяжении 10 дней.

Терапия пациентам обоих протоколов проводилась до достижения первичной точки исследования — увеличение кровотока более 5 % от исходного.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Экспериментальное исследование прямого тромболитического действия СУБТ in vitro.* После начала инкубации свежего, 1-часового тромба первые 15 мин скорость снижения его массы

SUBT 3200 IU/day — 32 patients treated with standard thrombosis therapy received a daily dose of 3200 IU — 3 capsules (2 capsules SUBT 800 IU + 1 capsule of placebo) twice a day for 10 days; the SUBT 4800 IU/day group — 34 patients receiving standard therapy for thrombosis in a daily dose of 4800 IU — 3 capsules (all capsules contained SUBT 800 IU) twice a day for 10 days.

Therapy for patients of both protocols was carried out until they reached the primary point of the research — an increase in blood flow by more than 5% of the initial.

## RESULTS AND DISCUSSION

*An experimental study of the direct thrombolytic effect of SUBT in vitro.* After the start of incubation of a fresh, 1-hour-old thrombus, during the first 15 min the rate of its mass decrease was practically the same both when perfused with saline solution and with a solution of SUBT (Fig. 1). Since this thrombus is a rather mild substance, at the beginning there is a loss of 25% of its mass due to blood cells washing off; therefore, the difference in the mass loss of the thrombus with the drug and saline solution is not so obvious.

After the 15<sup>th</sup> min of the experiment, the difference in the efficacy of two solutions became clearly visible: the mass of the thrombus perfused with SUBT solution began to fall actively. By the 45<sup>th</sup> min the blood clot's mass decreased by half, by the 75<sup>th</sup> min — by 4 times, by the 90<sup>th</sup> min — by 8 times, that is to the quantification limit. These changes occur due to layer-by-layer washing of blood cells from the thrombus surface, then a cord-like fibrin structure appears and the thrombus is lysed due to the destruction of its frame by proteolytic enzymes. It is worth noting that during the circulation of a thrombus in a solution of SUBT the destruction occurs on its surface exclusively, without formation of large fragments. This is important from a clinical point of view since in the body large fragments of a thrombus can lead to additional embolism of blood vessels.

A distinctive feature of subtilisin is its non-specific hydrolysis of denaturated or polymerized proteins that have lost their native structure. Therefore, subtilisin does not hydrolyze fibrinogen, but actively dissolves polymerized fibrin, both on the surface and inside the thrombus.

When incubated with saline solution, the decrease in thrombus mass gradually stops by 75<sup>th</sup>

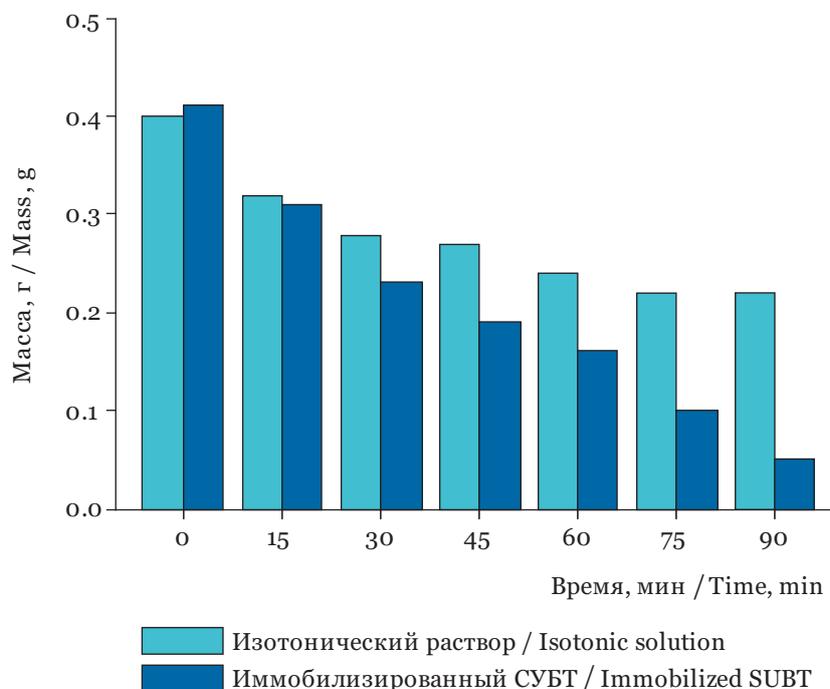
была практически одинаковой как при перфузии физиологическим раствором, так и раствора с СУБТ (рис. 1). Поскольку данный тромб представляет собой довольно мягкую субстанцию, то вначале идет потеря 25 % массы тромба за счет смывания клеток крови, поэтому разница по потере массы тромба с препаратом и контрольным раствором не столь очевидна. После 15-й минуты в эксперименте отчетливо видна разница по эффективности двух растворов: масса тромба в условиях перфузии раствора с СУБТ начинает активно снижаться, к 45-й минуте уменьшается в 2 раза, к 75-й — в 4 раза, к 90-й минуте — в 8 раз до предела определения минимальной массы. Данные изменения происходят за счет послонного отмывания с поверхности тромба клеток крови, проявляется тяжистая, фибриновая структура, тромб лизируется, за счет разрушения его каркаса протеолитическими ферментами. Стоит отметить, что в процессе циркуляции тромба в растворе с СУБТ происходит исключительно поверхностное его разрушение, без образования крупных фрагментов. Это очень важно с клинической точки зрения, так как в организме крупные фрагменты тромба могут приводить к дополнительной эмболии сосудов.

Отличительной чертой субтилизина является его неспецифичный гидролиз денатурированных или полимеризованных белков, утра-

min of the experiment. The ability of an isotonic solution to reduce mass by 50% in this experiment is explained by the friability of a thrombus solely.

A similar experiment was conducted to determine the effect of the thrombus formation time on the rate of its lysis by SUBT proteases (Fig. 2). It showed that the rate of mass loss of a 2-hour thrombus during its incubation with SUBT almost coincides with the lysis diagram of a fresh thrombus; while the thrombus mass perfused with saline solution over the entire experiment decreased by only 17%. This fact can be explained by the retraction of a 2-hour blood clot, a significant decrease in the proportion of cell-protein detritus in it, and, accordingly, the washable fibrin-free component. In the experimental group, the dynamics of thrombolysis did not significantly differ from the dynamics of a 1-hour thrombus: by 45<sup>th</sup> min, the thrombus size decreased by 55%, by 75<sup>th</sup> min — by 72%, by 90<sup>th</sup> min — by 85% (almost to the quantification limit).

It was interesting to evaluate the results of a similar experiment with a 24-hour thrombus which, under the influence of proteases, also began to dissolve rapidly. The circulating solution of SUBT was stained red by blood cells washed out of the thrombus. The thrombus rapidly decreased in size. After 135 min of being in the circulating solution of SUBT, the 24-hour thrombus mass



**Рис. 1.** Динамика изменения массы одночасового тромба  
**Fig. 1.** The dynamics of the 1-hour thrombus mass

тивших свою нативную структуру. Поэтому субтилизин не гидролизует фибриноген, но активно растворяет полимеризованный фибрин, как на поверхности, так и внутри тромба.

При инкубации с физиологическим раствором снижение массы тромба постепенно прекращается к 75-й минуте эксперимента. Способность изотонического раствора снижать массу на 50 % в данном эксперименте объясняется исключительно рыхлостью свежего тромба.

Для определения влияния времени образования тромба на скорость его лизиса протеазами СУБТ (рис. 2) был проведен аналогичный эксперимент. Он показал, что скорость потери массы 2-часового тромба при инкубации с СУБТ практически совпадает с графиком лизиса свежего тромба, при этом масса тромба при перфузии физиологического раствора за все время эксперимента снизилась лишь на 17 %. Это возможно объяснить произошедшей ретракцией двухчасового тромба, существенным уменьшением доли клеточно-белкового детрита в нем и, соответственно, вымываемой безфибриновой составляющей. В опытной группе динамика тромболитизиса существенно не отличалась от динамики одночасового тромба: величина тромба к 45-й минуте уменьшилась на 55 %, к 75-й минуте — на 72%, к 90-й минуте — на 85% (почти до предела детекции минимальной массы).

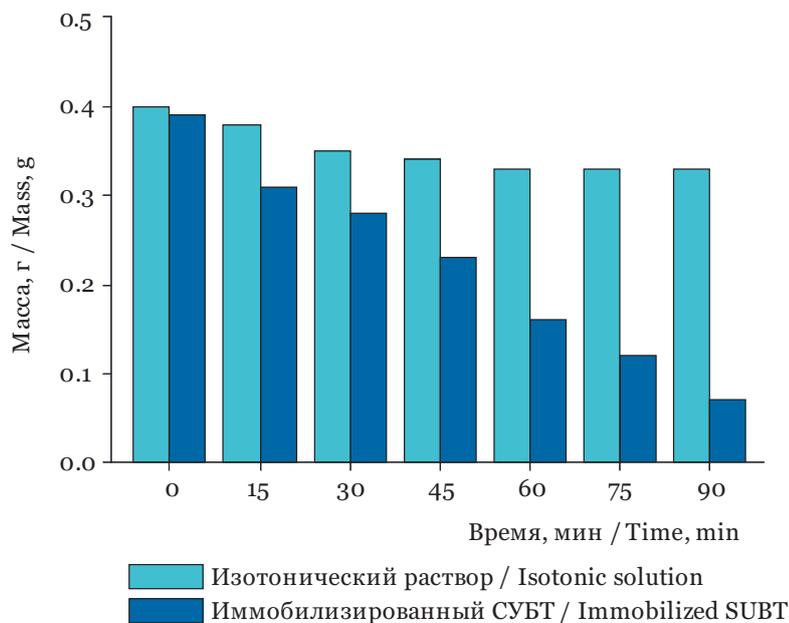
Интересно было оценить результаты аналогичного эксперимента с суточным тромбом, ко-

decreased by 8 times to the quantification limit ( $0.06 \pm 0.01$  g) (Fig. 3). During its lysis, large fragments also did not form. The only difference from more fresh thrombi was the prolonged dissolution time. Consequently, the SUBT dissolved both 1-, 2- and 24-hour thrombi efficiently.

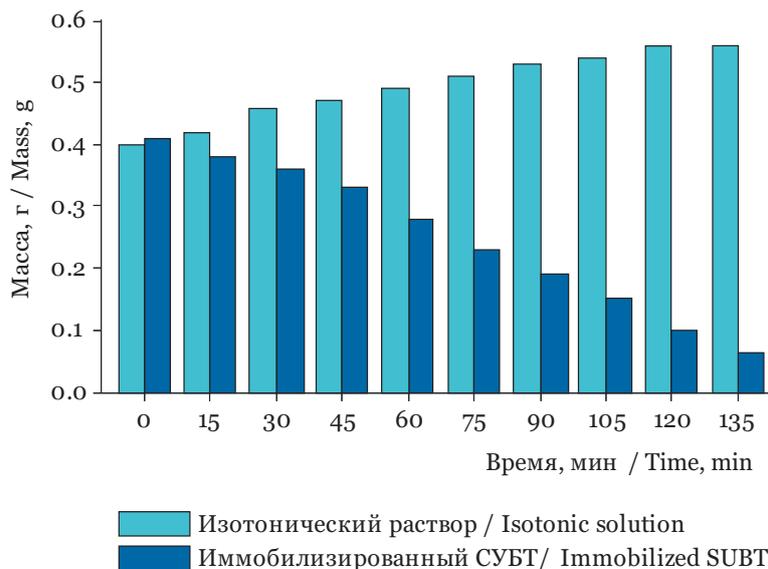
In the control study, when 24-hour thrombus was perfused with a saline solution, we did not observe its spontaneous dissolution throughout the experiment, on the contrary its mass merely increased. By the end of the experiment, its mass increased by 40%. After retraction, the thrombus was placed for 24 hours in storage, during which further induration of the fibrous clot occurred. When immersed into saline solution the thrombus increased in volume and mass.

Thus, as a result of the experiment we established that SUBT lyses layer-by-layer 1-, 2- and 24-hour thrombi efficiently without formation of large aggregates.

*An experimental study of the thrombolytic effect of SUBT in vivo.* It is known that thrombosis induced by  $\kappa$ -carrageenan develops within 24 hours, that is why the length of the thrombosis area was measured 24 hours after the injection. In the control group, the length of the area with induced thrombosis was  $6.9 \pm 0.2$  cm, i.e., the entire area on which the temporary ligature was applied (Fig. 4, B). At the same time, the area above the compression site, not subjected to thrombosis, was visible.



**Рис. 2.** Динамика изменения массы двухчасового тромба  
**Fig. 2.** The dynamics of the 2-hour thrombus mass



**Рис. 3.** Изменение массы суточного тромба  
**Fig. 3.** Change of the 24-hour thrombus mass

торый под влиянием протеаз также начал быстро поверхностно растворяться. Циркулирующий раствор СУБТ окрашивался вымываемыми из тромба эритроцитами. Тромб стремительно уменьшался в размерах. Через 135 мин нахождения в циркулирующем растворе СУБТ масса суточного тромба уменьшилась в 8 раз до нижней точки детекции ( $0.06 \pm 0.01$  г) (рис. 3). При его лизисе также не образовывалось крупных фрагментов. Единственное отличие его от более свежих тромбов — более продолжительное время растворения. Следовательно, СУБТ эффективно растворял как 1- и 2-часовые, так и суточные тромбы.

В контрольном исследовании при перфузии суточного тромба с физиологическим раствором самопроизвольного растворения тромба не наблюдалось, на протяжении всего эксперимента его масса, наоборот, только возрастала. К концу эксперимента его масса увеличилась на 40 %. После ретракции тромб помещался на 24 ч на хранение, в процессе которого происходило дальнейшее уплотнение фиброзного сгустка. При попадании в физиологический раствор тромб увеличивался в объеме и массе.

Таким образом, в результате эксперимента установлено, что СУБТ эффективно послойно лизирует 1-, 2- и 24-часовые тромбы без образования крупных агрегатов.

*Экспериментальное исследование тромболитического действия СУБТ in vivo.* Известно, что тромбоз, индуцированный введением κ-каррагинана, развивается в течение суток, поэтому длину участка с тромбозом измеряли через

Nevertheless, one day after an external difference was evident: the animals of the control group lost weight, on average,  $2.5 \pm 0.7$  g. Also in mice without SUBT treatment, cyanosis of the skin was noted. Microthrombi may have formed in blood vessels due to changes in the coagulation parameters in the control group mice [9]. In the group receiving SUBT, the mass of animals and the skin remained unchanged. In the group with SUBT treatment, 24 hours after the injection, thrombosis in the tail veins did not develop. At the site of injections, the κ-carrageenan caused only an inflammatory reaction, marked by redness of the skin of the tail (Fig. 4, C).

After 48 hours, in the off-treatment group, the thrombosis led to necrotization of tail tissues (Fig. 4, D). In the group with SUBT treatment, everything remained without changes (as after 24 hours), only at the κ-carrageenan injection site erythema was visible.

Thus, in mice with κ-carrageenan tail vein thrombosis, the administration of SUBT allowed to avoid local changes; the animals' condition was objectively better as compared to the group without SUBT treatment.

*A clinical study of the efficacy and safety of the SUBT in patients with acute venous thrombosis.* Findings of the research indicate that the SUBT daily dose of 1600 IU during the course is effective. This dose provides an increase in reserve capacity of anticoagulant hemostasis and a decrease in

24 ч после инъекций. В контрольной группе длина участка с индуцированным тромбозом составила  $6.9 \pm 0.2$  см, т. е. весь участок, на который была наложена временная лигатура (рис. 4, В), при этом отчетливо видна область выше места сдавливания, не подвергшаяся тромбозу. Уже через сутки была видна внешняя разница: животные контрольной группы потеряли в массе, в среднем  $2.5 \pm 0.7$  г. Также у мышей без лечения препаратом СУБТ отмечался цианоз кожных покровов. Возможно, в связи с изменениями коагуляционных параметров крови в сосудах мышцей контрольной группы образовывались микротромбы [9]. В группе с введением СУБТ масса животных и внешние покровы кожи остались без изменений. В группе с лечением СУБТ через 24 ч после инъекции тромбоз в хвостовых венах не развивался. На участке хвоста, где делали инъекции, к-каррагинан вызвал лишь воспалительную реакцию, отмечающуюся покраснением кожных покровов хвоста (рис. 4, С).

Через 48 ч в группе без лечения тромбоз привел к некротизации тканей хвоста (рис. 4, D). В группе с введением СУБТ все осталось без изменений (как и через 24 ч), лишь в месте введения к-каррагинана видна эритема.

Таким образом, у мышей с к-каррагинановым тромбозом хвостовой вены введение СУБТ позволяло избежать локальных изменений, состояние животных было объективно лучше по сравнению с группой без применения СУБТ.

platelet aggregation activity with a background of optimized ratio of some cytokines responsible for the implementation of pro- and anti-inflammatory activity.

In the study of hemostasis, we revealed the following dynamics of parameters on treatment: the APTT and platelet count did not change in the groups, the fibrinogen level decreased, and the international normalized ratio increased in all groups of patients. The D-dimer level decreased in the control group and the SUBT 3200 IU/day group, however, in patients who received SUBT in a daily dose of 4800 IU/day, by the end of the therapy course, the D-dimer level did not decrease, that is, lysis of thrombotic masses continued at the same rate. It should be noted that during the study in the Protocol 1 and Protocol 2 samplings there were no clinical and paraclinical signs of thromboembolism, as well as cases with negative dynamics. On the contrary, an increase in blood flow by more than 5% from the initial one or recanalization of the vein (restoration of blood flow by at least 5% with its complete absence at the beginning of therapy) was recorded. When assessing with ultrasound imaging the degree of normalization of blood flow in the area of compromised blood circulation after therapy, statistically significant differences were found between the groups of patients who received SUBT and the placebo-treated patients with conventional therapy for thrombosis in both groups.



**Рис. 4.** Изменение хвостов мышей в процессе эксперимента:

A — интактное животное; B — контрольная группа через 24 ч после подкожного введения к-каррагинана; C — группа с лечением СУБТ через сутки после инъекции; D — группа контроля через 48 ч

**Fig. 4.** Change in the mice's tails during the experiment:

A — intact animal; B — the control group 24 hours after subcutaneous administration of  $\kappa$ -carrageenan; C — the group with SUBT treatment one day after the injection; D — the control group after 48 hours

Клиническое исследование эффективности и безопасности применения СУБТ у больных с острым венозным тромбозом. По результатам исследования установлено, что курсовой прием СУБТ в суточной дозе 1600 ЕД обеспечивает достаточную эффективность, что выражается в повышении резервных возможностей антикоагулянтного звена гемостаза и снижении агрегационной активности тромбоцитов на фоне оптимизации соотношения ряда цитокинов, ответственных за реализацию про- и противовоспалительной активности.

При исследовании гемостаза была выявлена следующая динамика показателей на фоне проводимой терапии: показатели АЧТВ и количества тромбоцитов не изменялись в группах, уровень фибриногена снижался, а международное нормализованное отношение увеличивалось во всех группах пациентов; уровень D-димера снижался в контрольной группе и группе «СУБТ 3200 ЕД/сут», а у пациентов, получавших СУБТ в суточной дозе 4800 ЕД/сут, ко времени окончания терапии уровень D-димера не уменьшался, т. е. лизис тромботических масс продолжался с прежней скоростью. Нужно отметить, что при проведении исследования в выборках «Протокол 1» и «Протокол 2» не зарегистрировано клинических и параклинических признаков тромбоэмболии, а также случаев с отрицательной динамикой. Напротив, зафиксировано увеличение кровотока более чем на 5 % от исходного либо реканализация вены (восстановление кровотока как минимум на 5 % при полном его отсутствии к началу терапии). При оценке степени нормализации кровотока в зоне скомпрометированного кровообращения после проведения терапии с помощью УЗ-визуализации обнаружены статистически значимые различия между группами пациентов, получавших на фоне общепринятой терапии тромбоза СУБТ, и пациентов, получавших плацебо.

У пациентов, получавших СУБТ в дозе 1600 и 3200 ЕД/сут, увеличение кровотока более чем на 5 % от исходного либо реканализация вены наблюдается в 1.6 раза чаще (на 60 %), чем у пациентов контрольной группы. У пациентов, получавших СУБТ в дозе 4800 ЕД/сут, увеличение кровотока более чем на 5 % от исходного либо реканализация вены наблюдается в 1.5 раза чаще (на 50 %), чем у пациентов контрольной группы.

Таким образом, проведенный анализ показывает безопасность и эффективность СУБТ при

In patients who received SUBT in 1600 and 3200 IU/day, an increase in blood flow by more than 5% from the initial or vein recanalization is observed 1.6 times more often (by 60%) than in patients of the control group. In patients who received 4800 IU/day of SUBT, an increase in blood flow by more than 5% from the initial or recanalization of the vein is observed 1.5 times more often (by 50%) than in patients of the control group.

Thus, the analysis shows the safety and the efficacy of SUBT in the treatment of venous thrombosis of the lower extremities.

The results of *in vitro* and *in vivo* experiments have shown that SUBT has a direct thrombolytic effect. Besides, a thrombus, when exposed to SUBT, dissolves layer-by-layer without fragmentation. This fact seems to be extremely important for the clinical use of SUBT since it excludes the embologeneity of the thrombolysis performed.

## CONCLUSION

The drug based on immobilized subtilisins, studied in preclinical and clinical researches, can be introduced into clinical practice as an oral thrombolytic medication.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

комплексной терапии венозных тромбозов нижних конечностей.

Результаты экспериментов *in vitro* и *in vivo* показали, что СУБТ обладает прямым тромболитическим действием. Кроме того, тромб при воздействии СУБТ растворяется послойно, без фрагментации. Это обстоятельство представляется чрезвычайно важным для клинического применения СУБТ, поскольку исключает эмбологенность проводимого тромболитического действия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лекарственный препарат на основе иммобилизованных субтилизинов, изученный в доклинических и клинических исследованиях, может быть внедрен в клиническую практику в качестве перорального средства тромболитической терапии.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hoffman M., Monroe D.M. 3rd. A cell-based model of hemostasis // *Thromb. Haemost.* 2001. Vol. 85 (6). P. 958–965. doi: 10.1055/s-0037-1615947.
- Лобастов К.В., Деметьева Г.И., Лаберко Л.А. Современные представления об этиологии и патогенезе венозного тромбоза: переосмысление триады Вирхова // *Флебология*. 2019. Т. 13, № 3. С. 227–235.
- Счастливец И.В., Лобастов К.В., Цаплин С.Н., Мкртычев Д.С. Современный взгляд на систему гемостаза: клеточная теория // *Мед. совет*. 2019. № 16. С. 72–77.
- Житкова Ю.В., Айсина Р.Б., Варфоломеев С.Д. Кинетика лизиса фибрина плазмином: ингибирование продуктами деградации фибрина // *Биоорганическая химия*. 1996. Т. 22, № 12. С. 911–915.
- Baldwin J.F., Sood V., Megan A. et al. The role of urokinase plasminogen activator and plasmin activator inhibitor-1 on vein wall remodeling in experimental deep vein thrombosis // *Vasc. Surg.* 2012 Oct. Vol. 56 (4). P. 1089–1097. doi: 10.1016/j.jvs.2012.02.054.
- Wahlgren N., Ahmed N., Dávalos A. et al. Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study // *Lancet*. 2007. Vol. 369 (9558). P. 275–282.
- Donkel S.J., Benaddi B., Dippel D.W.J., Ten Cate H., de Maat M.P.M. Prognostic hemostasis biomarkers in acute ischemic stroke // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019. Vol. 39. P. 360–372.
- Szegedi I., Nagy A., Szekely E.G. et al. PAI-1 5G/5G genotype is an independent risk of intracranial hemorrhage in post-lysis stroke patients // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2019 Nov. Vol. 6 (11). P. 2240–2250. doi: 10.1002/acn3.50923.
- Liu S.Q., Guo J.Y., Du J. et al. Anticoagulant effect of Huisheng Oral Solution in a rat model of thrombosis // *Indian J. Pharmacol.* 2013 Jul-Aug. Vol. 45 (4). P. 359–364. doi: 10.4103/0253-7613.115018.
- Scheer F.A., Shea S.A. Human circadian system causes a morning peak in prothrombotic plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) independent of the sleep/wake cycle // *Blood*. 2014. Vol. 123. P. 590–593.
- Kim W., Choi K., Kim Y. et al. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from chungkook-jang // *Appl. Environ. Microbiol.* 1996. Vol. 62 (7). P. 2482–2488.
- Baskova I.P., Kalabushev S.N., Akhaev D.N. et al. Role of isopeptidolysis in the process of thrombolysis // *Thromb. Res.* 2018 May. Vol. 165. P. 18–23.
- Avhad D.N., Vanjari S.S., Virendra K. A novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus sphaericus* MTCC3672: optimization and purification studies // *Am. J. Cur. Microbiol.* 2013. Vol. 1. P. 1–13.
- Peng Y., Huang Q., Zhang R.H., Zhang Y.Z. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from douchi, a traditional Chinese soybean food // *Comp. Biochem. Physiol. Pt. B: Biochem. Mol. Biol.* 2003. Vol. 134 (1). P. 45–52.

## REFERENCES

- Hoffman M., Monroe D.M. (2001). A cell-based model of hemostasis. *Thromb. Haemost.*, 85 (6), 958–965. doi: 10.1055/s-0037-1615947.
- Lobastov K.V., Dementieva G.I., Laberko L.A. (2019). Current insights on the etiology and pathogenesis of venous thrombosis: Virchow's triad revision. *Journal of Venous Disorders*, 13 (3), 227–235.
- Schastlivtsev I.V., Lobastov K.V., Tsaplin S.N., Mkrtychev D.S. (2019). Modern view on hemostasis system: cell theory. *Medical Council*, 16, 72–77.
- Zhitkova Yu.V., Aisina R.B., Varfolomeev S.D. (1996). Kinetics of fibrinolysis by plasmin: inhibition by the products of fibrin degradation. *Bioorganic Chemistry*, 22 (12), 911–915. In Russ.
- Baldwin J.F., Sood V., Megan A. et al. (2012, Oct). The role of urokinase plasminogen activator and plasmin activator inhibitor-1 on vein wall remodeling in experimental deep vein thrombosis. *Vasc. Surg.*, 56 (4), 1089–1097. doi: 10.1016/j.jvs.2012.02.054.
- Wahlgren N., Ahmed N., Dávalos A. et al. (2007). Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet*, 369 (9558), 275–282.
- Donkel S.J., Benaddi B., Dippel D.W.J., Ten Cate H., de Maat M.P.M. (2019). Prognostic hemostasis biomarkers in acute ischemic stroke. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 39, 360–372.
- Szegedi I., Nagy A., Szekely E.G. et al. (2019). PAI-1 5G/5G genotype is an independent risk of intracranial hemorrhage in post-lysis stroke patients. *Ann. Clin. Transl. Neurol.*, 6 (11), 2240–2250. doi: 10.1002/acn3.50923.
- Liu S.Q., Guo J.Y., Du J. et al. (2013, Jul-Aug). Anticoagulant effect of Huisheng Oral Solution in a rat model of thrombosis. *Indian J. Pharmacol.*, 45 (4), 359–364. doi: 10.4103/0253-7613.115018.
- Scheer F.A., Shea S.A. (2014). Human circadian system causes a morning peak in prothrombotic plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) independent of the sleep/wake cycle. *Blood*, 123, 590–593.
- Kim W., Choi K., Kim Y. et al. (1996). Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from chungkook-jang. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (7), 2482–2488.
- Baskova I.P., Kalabushev S.N., Akhaev D.N. et al. (2018, May). Role of isopeptidolysis in the process of thrombolysis. *Thromb. Res.*, 165, 18–23.
- Avhad D.N., Vanjari S.S., Virendra K. (2013). A novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus sphaericus* MTCC3672: optimization and purification studies. *Am. J. Cur. Microbiol.*, 1, 1–13.
- Peng Y., Huang Q., Zhang R.H., Zhang Y.Z. (2003). Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from douchi, a traditional Chinese soybean food. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. B: Biochem. Mol. Biol.*, 134 (1), 45–52.
- Dygay A.M., Zyuz'Kov G.N., Zhdanov V.V. et al. (2012). Hypoglycemic effects of hyaluronate-endo-β-NAcetylhexosaminidase immobilized by electron

15. Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. и др. Гипогликемические свойства иммобилизированной с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза гиалуронат-эндо-β-N-ацетилгексозаминидазы // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2012. Т. 153, № 1. С. 106–109.
16. Киншт Д.Н., Мадонов П.Г., Ластовецкий А.Г., Китанина К.Ю., Удут В.В. Технология электронно-лучевого синтеза как перспективное направление в разработке иммобилизованных интерферонов для перорального применения (обзор литературы) // Вестн. новых мед. технологий. 2017. № 3. С. 211–225.
17. Bekemeier H., Giessler A.J. Thrombosis induction by different carrageenans in rats and mice // *Naturwissenschaften*. 1987. Vol. 74. P. 345–346.
- beam synthesis nanotechnology. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 153 (1), 106–109.
16. Kinsht D.N., Madonov P.G., Lastovetskiy A.G., Kitaniina K.Yu., Udut V.V. (2017). Technology of electron-beam synthesis as a perspective direction in development of immobilized interferons for oral use (literature report). *Journal of New Medical Technologies*, 3, 211–225.
17. Bekemeier H., Giessler A.J. (1987). Thrombosis induction by different carrageenans in rats and mice. *Naturwissenschaften*, 74, 345–346.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Мишенина Светлана Владимировна** — доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Байкалов Герман Игоревич** — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Байкалова Наталья Евгеньевна** — ординатор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Макаров Вячеслав Константинович** — студент стоматологического факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Мадонов Павел Геннадьевич** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г. Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020. № 1. С. 76–88.

### ABOUT THE AUTHORS

**Mishenina Svetlana Vladimirovna** — Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University.

**Baikalov German Igorevich** — Graduate Student, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine Novosibirsk State Medical University.

**Baikalova Natalya Evgenyevna** — Resident, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University.

**Makarov Vyacheslav Konstantinovich** — Student, Faculty of Dentistry, Novosibirsk State Medical University.

**Madonov Pavel Gennadyevich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University.

**Citation example:** Mishenina S.V., Baykalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G. (2020). A rationale for application of immobilized subtilisines for target therapy of venous thrombosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 76–88.

## Оценка эффективности новых вагинальных суппозиториев с густым экстрактом листьев шалфея лекарственного при лечении неспецифического вагинита в эксперименте

Юнусова И.А., Передерий Е.А., Телешова О.В., Бургело Е.В., Горяникова И.Н.

ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»

## Evaluation of the efficacy of new vaginal suppositories with garden sage leaves solid extract in treatment of non-specific vaginitis in experiment

Yunusova I.A., Perederiy E.A., Teleshova O.V., Burgelo E.V., Goryanikova I.N.

Saint Luka Lugansk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

Эксперимент, в ходе которого изучалась фармакологическая активность суппозиториев вагинальных с густым экстрактом листьев шалфея лекарственного (ГЭЛШЛ) на модели индуцированного вагинита, проводился на 36 крысах-самках. Животных разделили на 6 групп (по 6 крыс в каждой): 1-я — контрольная (интактные крысы); 2-я — индуцированный вагинит; 3-я — индуцированный вагинит с фармакокоррекцией суппозиториями вагинальными «Метронидазол» в дозе 43 мг/кг; 4-я — индуцированный вагинит + суппозитории с облепиховым маслом в дозе 43 мг/кг; 5-я — индуцированный вагинит + суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ в дозе 4.3 мг/кг; 6-я — индуцированный вагинит + суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ в дозе 8.5 мг/кг. Экспериментальный вагинит моделировали путем однократного интравагинального введения флогогена в дозе 0.2 мл на одно животное.

Установлено, что исследуемый препарат в дозе 4.3 мг/кг проявляет максимальную регенерирующую активность. Так, при коррекции вагинита исследуемым препаратом в дозе 4.3 мг/кг толщина эпителия составила 65.06 [38.2–89.4] мкм (при лечении суппозиториями «Метронидазол» и суппозиториями с облепиховым маслом 43.3 [34.7–55.6] и 76.6 [48.7–107.1] мкм соответственно), а соотношение эпителия и стромы собственной пластинки слизистого слоя влагалища было близким к норме.

Таким образом, суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ являются перспективными для дальнейшего изучения в качестве потенциального средства для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний нижнего отдела женского полового тракта.

**Ключевые слова:** вагинит, густой экстракт листьев шалфея лекарственного, слизистая оболочка влагалища.

### ABSTRACT

The pharmacological activity of vaginal suppositories with the garden sage leaves solid extract (GSLSE) was studied on a model of the induced vaginitis during experiment which was conducted on 36 female rats. Animals were divided into 6 groups (6 rats in each one): the 1<sup>st</sup> group was control one (intact rats); the 2<sup>nd</sup> group was with the induced vaginitis; the 3<sup>rd</sup> group was with the induced vaginitis and pharmacological correction by vaginal suppositories Metronidazole in a dose of 43 mg/kg; the 4<sup>th</sup> group was with induced vaginitis and sea-buckthorn oil suppositories in a dose of 43 mg/kg; the 5<sup>th</sup> group was the induced vaginitis and vaginal suppositories with GSLSE in a dose of 4.3 mg/kg; the 6<sup>th</sup> group was the induced vaginitis and vaginal suppositories with GSLSE in a dose of 8.5 mg/kg. An experimental vaginitis was modeled by single intravaginal injection of phlogogen at a dose of 0.2 ml per one animal.

It is established that the studied drug in a dose of 4.3 mg/kg shows the maximum regenerative activity. So, when correcting vaginitis with the studied drug in a dose of 4.3 mg/kg thickness of epithelium was 65.06 [38.2–89.4]  $\mu$ m (when treated with Metronidazole suppositories and suppositories with sea-buckthorn oil 43.3 [34.7–55.6] and 76.6 [48.7–107.1]  $\mu$ m respectively), and the ratio of epithelium and stroma of lamina propria of vaginal mucosa was close to normal.

Поступила 09.09.2019  
Принята 20.10.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Юнусова Инна Алексеевна: ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки». 91045, г. Луганск, квартал 50 лет Оборона Луганска, 1 г.  
E-mail: i.a.tokovaya@gmail.com

Received 09.09.2019  
Accepted 20.10.2019

\*Corresponding author  
Yunusova Inna Alekseyevna: Saint Luka Lugansk State Medical University, 1 g, Kvarstal 50 Let Oborony Luganska, Lugansk, 91045, Lugansk People's Republic.  
E-mail: i.a.tokovaya@gmail.com

Thus, vaginal suppositories with GSLSE are perspective for further studying as a potential tool for the treatment of infectious and inflammatory diseases of lower female genital tract.

**Keywords:** vaginitis, solid extract of garden sage leaves, vaginal mucosa.

## ВВЕДЕНИЕ

Сегодня особое внимание уделяется лечению инфекционно-воспалительных гинекологических заболеваний, которые негативно отражаются на репродуктивном здоровье и качестве жизни женщин [1]. Воспалительные гинекологические заболевания чаще всего начинаются с инфекционных поражений вульвы и влагалища. В последние годы отмечается рост заболеваемости женщин цервицитами и вульвовагинитами. Неспецифический вагинит обнаруживают у каждой пятой пациентки гинекологического профиля. Данная патология встречается в широком возрастном диапазоне, при этом, как правило, развивается на фоне инфекционных заболеваний, воздействия местных повреждающих агентов, снижения функции яичников, эндокринной патологии, иммунодефицитных состояний [2].

Терапия неспецифического вагинита направлена на оказание как местного, так и системного противовоспалительного, антимикробного и общеукрепляющего воздействия. Местное лечение заключается в санации наружных половых органов и влагалища, введении во влагалище вагинальных свечей и таблеток с различными препаратами. Среди интравагинальных лекарственных препаратов для лечения данной патологии большую долю занимают синтетические препараты, в связи с чем, на наш взгляд, интерес представляют препараты природного происхождения, обладающие рядом преимуществ [3]. Для лекарственных препаратов растительного происхождения характерны поливалентность и системность фармакологического действия, эффективность и безопасность при длительном лечении, минимальные побочные эффекты и возможность использования для их производства отечественного сырья. В связи с этим разработка новых лекарственных препаратов на основе лекарственного растительного сырья для местного применения сегодня является актуальной задачей.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение фармакологической активности суппозиториев вагинальных с густым экстрактом листьев шалфея лекарственного (ГЭЛШЛ) на модели индуцированного вагинита (ИВ).

## INTRODUCTION

Nowadays special attention is paid to treatment of infectious and inflammatory gynecological diseases which negatively affect women's reproductive health and quality of life [1]. Inflammatory gynecological diseases most often begin with infectious lesions of vulva and vagina. In recent years, an increase in the incidence of women with cervicitis and vulvovaginitis has been noted. Nonspecific vaginitis is registered in every fifth patient of a gynecological profile. This pathology occurs in a wide age range, while as a rule it develops against the background of infectious diseases, exposure to local damaging agents, decreased ovarian function, endocrine pathology, immunodeficiency states [2].

Treatment of nonspecific vaginitis is directed to rendering both local and systemic antiinflammatory, antimicrobial and recuperative influence. Topical treatment consists of sanitation of external genital organs and vagina, administration of vaginal suppositories and tablets with various medicaments. Among intravaginal medicines for the treatment of this pathology a large proportion is occupied by synthetic drugs, in this connection, in our opinion, drugs of natural origin having a number of advantages [3] are of interest. Herbal medicines are characterized by multivalency and systemic pharmacological action, efficiency and safety during long-term treatment, minimal side effects and possibility of using domestic raw materials for their production. In this regard development of new medicines on the basis of medicinal plant raw materials for topical administration is an urgent task today.

## AIM OF THE RESEARCH

Studying of pharmacological activity of vaginal suppositories with the garden sage leaves solid extract (GSLSE) on model of the induced vaginitis (IV).

## MATERIALS AND METHODS

The research was conducted on 36 white outbred mature female rats weighting  $170.8 \pm 15.59$  g. The animals were kept and an experiment was conducted according to the generally accepted recommendations. The work meets the requirements of

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 36 белых беспородных половозрелых крысах-самках массой  $170.8 \pm 15.59$  г. Содержание животных и проведение эксперимента соответствовали общепринятым рекомендациям. В работе соблюдены требования гуманного обращения с экспериментальными животными [4, 5]. В эксперименте использовали минимально допустимое для статистической обработки и получения достоверных результатов общепринятое количество животных (по 6 в группе).

Животных разделили на 6 групп: 1-я — контрольная (интактные крысы); 2-я — индуцированный вагинит; 3-я — индуцированный вагинит + суппозитории вагинальные «Метронидазол» (ООО «Анжеро-Судженский химико-фармацевтический завод», Россия) в дозе 43 мг/кг; 4-я — индуцированный вагинит + суппозитории с облепиховым маслом (АО «НИЖФАРМ», Россия) в дозе 43 мг/кг; 5-я — индуцированный вагинит + суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ в дозе 4,3 мг/кг; 6-я — индуцированный вагинит + суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ в дозе 8,5 мг/кг. Дозы, применяемые в исследовании, рассчитывали с учетом используемых в экспериментальной фармакологии коэффициентов видовой стойкости Ю.Р. Рыболовлева [6].

Терапевтическую эффективность изучали на модели индуцированного вагинита, который воспроизводили путем однократного интравагинального введения экспериментальному животному флогогена (15% формалин) в дозе 0,2 мл [7]. Исследуемые препараты и препараты сравнения вводили интравагинально 1 раз в сутки в течение 3 сут до введения флогогена и 7 сут после введения. Длительность введения изучаемых препаратов — 11 дней. После завершения моделирования вагинита и введения лекарственных препаратов крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом, путем декапитации, и получали образцы слизистой оболочки влагалища (СОВ).

Экспериментальные образцы фиксировали в 10% растворе формалина, обезживали в спиртах с возрастающей концентрацией и заливали в парафин, после чего с каждого блока с тканью стенки влагалища животного изготавливали серийные срезы толщиной 5 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование выполнялось при увеличении 100 и 400 с помощью микроскопа Primo Star (Carl Zeiss, Германия).

Морфометрия гистологических препаратов начиналась со стереометрического исследования

humane treatment of experimental animals [4, 5]. The standard quantity of animals, minimum admissible for statistical processing and obtaining significant results (6 in a group) was used during the experiment.

Animals were divided into 6 groups: the 1<sup>st</sup> one was control one (intact rats); the 2<sup>nd</sup> group was with the induced vaginitis; the 3<sup>rd</sup> group was with the induced vaginitis and vaginal suppositories Metro-nidazole (Anzhero-Sudzhensk Chemical and Pharmaceutical Plant, Russia) in a dose of 43 mg/kg; the 4<sup>th</sup> group was with the induced vaginitis and suppositories with sea-buckthorn oil (Nizhparm, Russia) in a dose of 43 mg/kg; the 5<sup>th</sup> group was with the induced vaginitis and GSLSE vaginal suppositories in a dose of 4.3 mg/kg; the 6<sup>th</sup> group was with the induced vaginitis and GSLSE vaginal suppositories in a dose of 8.5 mg/kg. The doses applied in the study were calculated taking into account the species resistance coefficients used in experimental pharmacology by Yu.R. Rybolovlev [6].

The therapeutic efficacy was studied on model of the induced vaginitis which was reproduced by single intravaginal injection of phlogogen (15% formalin) to experimental animal in a dose of 0.2 ml [7]. The studied drugs and the drugs of comparison were administered intravaginally 1 time a day during 3 days before the phlogogen injection and 7 days after it. The duration of administration of the studied drugs was 11 days. After completion of modeling of vaginitis and administration of medicines the rats were withdrawn from the experiment under ether anaesthesia by decapitation, and the samples of vaginal musoca (VM) were obtained.

Experimental samples were fixated in 10% formaline solution, dehydrated in ascending alcohol series and embedded in paraffin. After that serial sections of 5  $\mu$ m thick were made from each block with vaginal wall tissue of an animal. The preparations were stained with hematoxylin and eosine. Microscopic examination was performed at 100x and 400x magnification with Primo Star microscope (Carl Zeiss, Germany).

The morphometry of tissue specimens started with stereometric study by means of Primo Star microscope at 400x magnification using spot counting method. A grid of horizontal and vertical lines the intersection of which formed 100 points was overlaid on the computer image of a tissue specimen. The number of points which fell within a structure corresponded to the specific volume of this structure in the tissue [8].

с помощью микроскопа Primo Star при увеличении 400, с применением метода «точечного счета». На компьютерное изображение гистологического препарата накладывалась сетка из горизонтальных и вертикальных линий, пересечение которых образовывало 100 точек. Количество точек, находившихся в структуре, соответствовало удельному объему этой структуры в ткани [8].

Методом «точечного счета» при 400-кратном увеличении микроскопа определялось эпителиально-стромальное соотношение (эпителия и стромы собственной пластинки) слизистой влагалища. В каждой группе исследовали 10 полей зрения гистологических препаратов, что составляло 1000 точек. Регистрировались точки, которые проецировались на эпителиальную пластинку и собственную пластинку слизистой оболочки.

Для определения толщины эпителиального слоя была выполнена компьютерная морфометрия с помощью микроскопа Primo Star, персонального компьютера, видеорегистратора и программы анализа изображений AxioVision (версия 4.8.2) при 400-кратном увеличении. В каждом поле зрения измеряли по 10 значений и усредняли их в группе. Полученные результаты позволили определить среднюю толщину эпителиальной пластинки слизистой оболочки влагалища с учетом акантоотических разрастаний в микрометрах.

Статистическую обработку всех цифровых показателей проводили с применением программного пакета Microsoft Excel XP. Результаты морфометрического исследования представлены в виде медианы (*Me*) и квартильных интервалов [ $Q_1-Q_3$ ]. Отличия между группами считали статистически достоверными при принятом уровне статистической значимости  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При обзорной микроскопии структура слизистой оболочки влагалища у интактных крыс соответствовала норме (рис. 1). При морфометрическом исследовании толщина эпителия составила 61.9 [54.07–77.7] мкм. Соотношение эпителиальной и стромальной пластинки слизистой влагалища приближалось к 1 : 1. Признаков повреждения в эпителии не выявлено (таблица).

О развитии патологического процесса в СОВ животных с индуцированным вагинитом, не получавших лечение, свидетельствовал выявленный субтотальный язвенный дефект различной глубины и значительной протяженности. По периферии зон некроза и язв в сохранившемся в единичных полях зрения эпителии определя-

The epithelial and stromal ratio (an epithelium and a stroma of lamina propria) vaginal mucosa was defined by spot counting method at 400x magnification of microscope. In each group 10 fields of view in tissue specimens were examined which made 1000 points. Points which were projected on an epithelial layer and lamina propria of a mucous membrane were registered.

For determination of thickness of an epithelial layer the computer morphometry by Primo Star microscope, personal computer, video recorder and AxioVision images analysis program (version 4.8.2) at 400-fold magnification was conducted. 10 values in each field of view were measured and averaged in the group. The received results allowed to determine the average thickness of epithelial layer of vaginal mucosa taking into account acanthotic growths in micrometers.

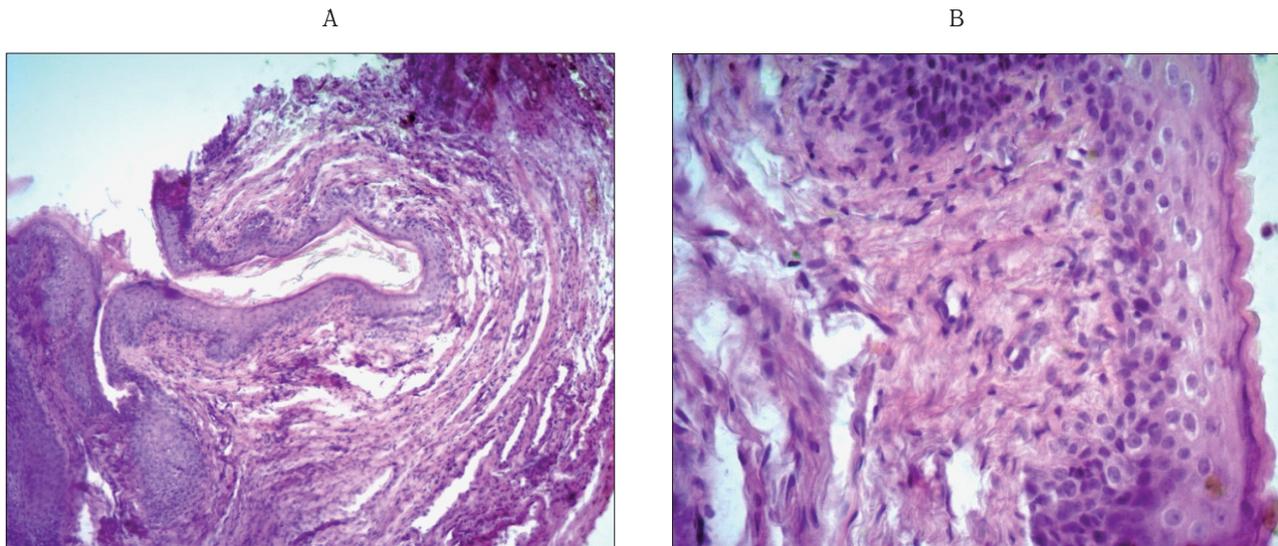
Statistical processing of all digital parameters was carried out with use of the Microsoft Excel XP software package. Results of morphometric research are presented in the form of a median (*Me*) and quartile intervals [ $Q_1-Q_3$ ]. Differences between groups considered statistically significant at the accepted level of the statistical significance  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

At the survey microscopy the structure of vaginal mucosa in intact rats was normal (Fig. 1). In a morphometric study thickness of epithelium was 61.9 [54.07–77.7]  $\mu\text{m}$ . The ratio of epithelial and stromal plate of vaginal mucosa was close to 1 : 1. No signs of damage in the epithelium were revealed (the Table).

The development of the pathological process in the vaginal mucosa of animals with induced vaginitis that did not receive treatment was evidenced by the revealed subtotal ulcer defect of various depth and considerable length. Along the periphery of the necrosis and ulcer zones, in single fields of view the acantosis and acantolysis foci were determined in the remaining epithelium (Fig. 2). The morphometric study revealed the thinning of the remaining epithelium to 38.4 [31.1–52.0]  $\mu\text{m}$ , and significant prevalence of stroma over epithelium (see Table).

The morphofunctional study results of VM in rats after treatment with GSLSE vaginal suppositories in a dose of 8.5 mg/kg indicate the regeneration of the epithelium throughout and the restoration of the three-layer epithelium in most of the epithelial layer. Dystrophic changes were detected in a small number of epithelial cells. The degree of pathologi-



**Рис. 1.** Слизистая оболочка влагалища intactных крыс:

А — неповрежденная эпителиальная пластинка (ув. 100); В — разделение многослойного плоского эпителия на три слоя (базальный, промежуточный и роговой) и собственная (стромальная) пластинка (ув. 400)

**Fig. 1.** The vaginal mucosa of intact rats:

А — undamaged epithelial plate (magnification (magn.) 100x); В — separation of the multilayer squamous epithelium into three layers (basal, intermediate, and horny) and the lamina propria (stromal layer) (magn. 400x)

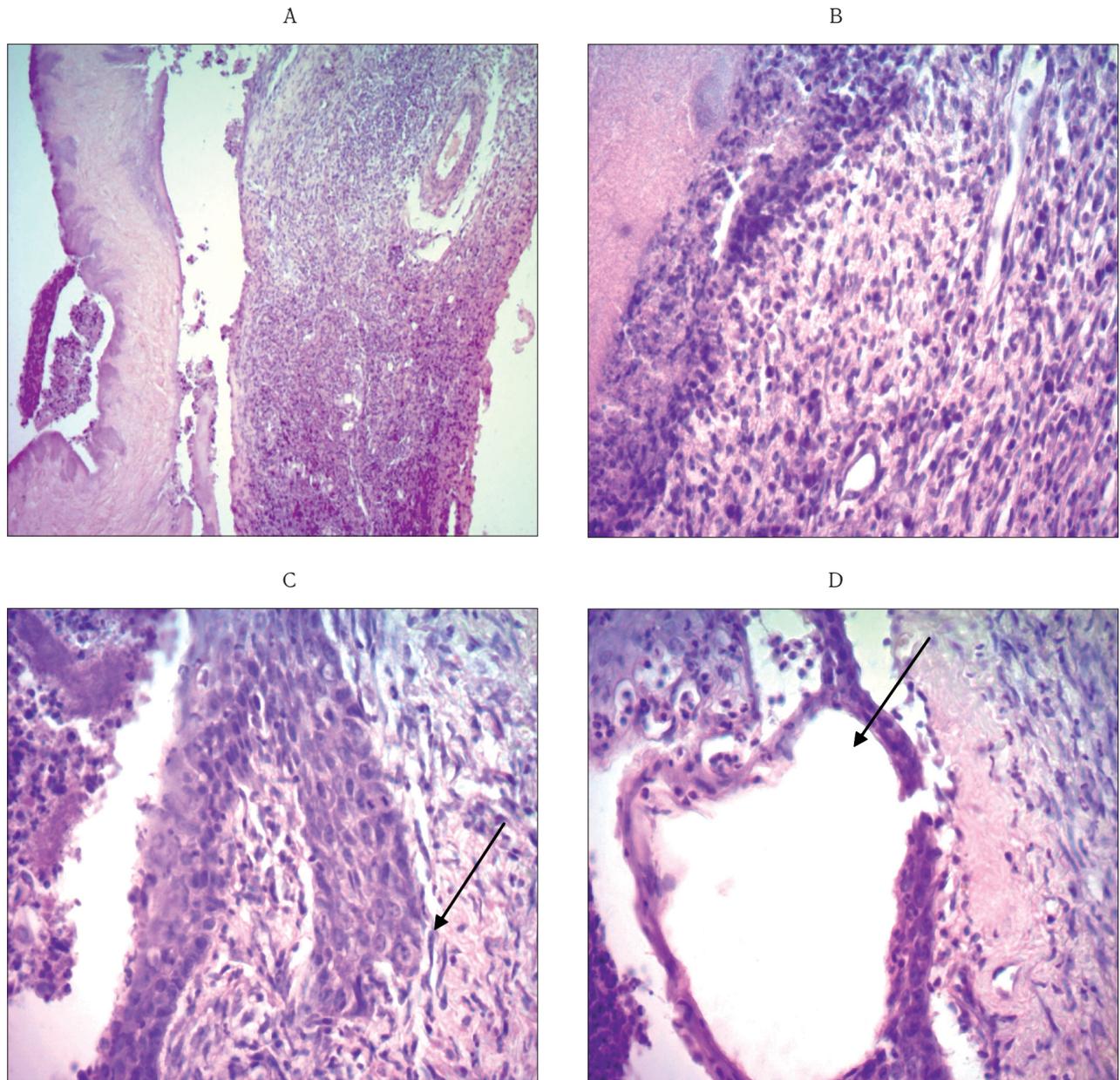
лись очаги акантоза и акантолизиса (рис. 2). Морфометрическое исследование выявило истончение сохранившегося эпителия до 38.4 [31.1–52.0] мкм, значительное преобладание стромы над эпителием (см. таблицу).

cal changes, circulatory disorders, the volume of inflammatory infiltrates were significantly reduced. At the same time, in comparison with the control group, signs of hyperregeneration were registered, in the form of basal cell hyperplasia and thickening

Результаты гистологической и морфометрической оценки изменений слизистой оболочки влагалища крыс исследованных групп ( $Me [Q_1-Q_3]$ )

Results of histological and morphometric assessment of changes in vaginal mucosa in rats of studied groups ( $Me [Q_1-Q_3]$ )

Группа / Group	Толщина эпителиальной пластинки слизистой влагалища (мкм) Epithelial layer thickness of vaginal mucosa ( $\mu\text{m}$ )	$p$	Эпителиально-стромальное соотношение (%) Epithelial-stromal ratio (%)		
			эпителий epithelium	строма stroma	просвет влагалища vaginal lumen
Контрольная / Control	61.9 [54.07–77.7]	—	43.0 [33.0–46.0]	56.5 [45.5–62.0]	14.0 [10.25–18.75]
ИВ / IV	38.4 [31.1–52.0]	$p_{1-2} < 0.05$	21.5 [0.5–35.5]	65.5 [46.0–77.5]	23.0 [14.75–30.0]
ИВ + метронидазол IV + Metronidazole	43.3 [34.7–55.6]	$p_{1-3} < 0.05$ $p_{2-3} < 0.05$	32.5 [29.0–43.5]	56.0 [40.75–66.5]	17.0 [12.5–22.5]
ИВ + суппозитории с ГЭЛШЛ 8.5 мг IV + GSLSE vaginal suppositories 8.5 mg	68.3 [59.1–78.5]	$p_{1-4} < 0.05$ $p_{2-4} < 0.05$	56.0 [46.5–70.25]	41.5 [30.5–47.75]	7.5 [6.25–8.0]
ИВ + суппозитории с ГЭЛШЛ 4.3 мг IV + GSLSE vaginal suppositories 4.3 mg	65.06 [38.2–89.4]	$p_{1-5} > 0.05$ $p_{2-5} < 0.05$	38.0 [32.75–41.0]	51.5 [48.75–59.75]	15.0 [13.25–19.0]
ИВ + суппозитории с облепиховым маслом IV + sea-buckthorn oil suppositories	76.6 [48.7–107.1]	$p_{1-6} < 0.05$ $p_{2-6} < 0.05$	53.0 [37.0–68.0]	45.5 [34.0–65.0]	9.0 [7.25–12.5]



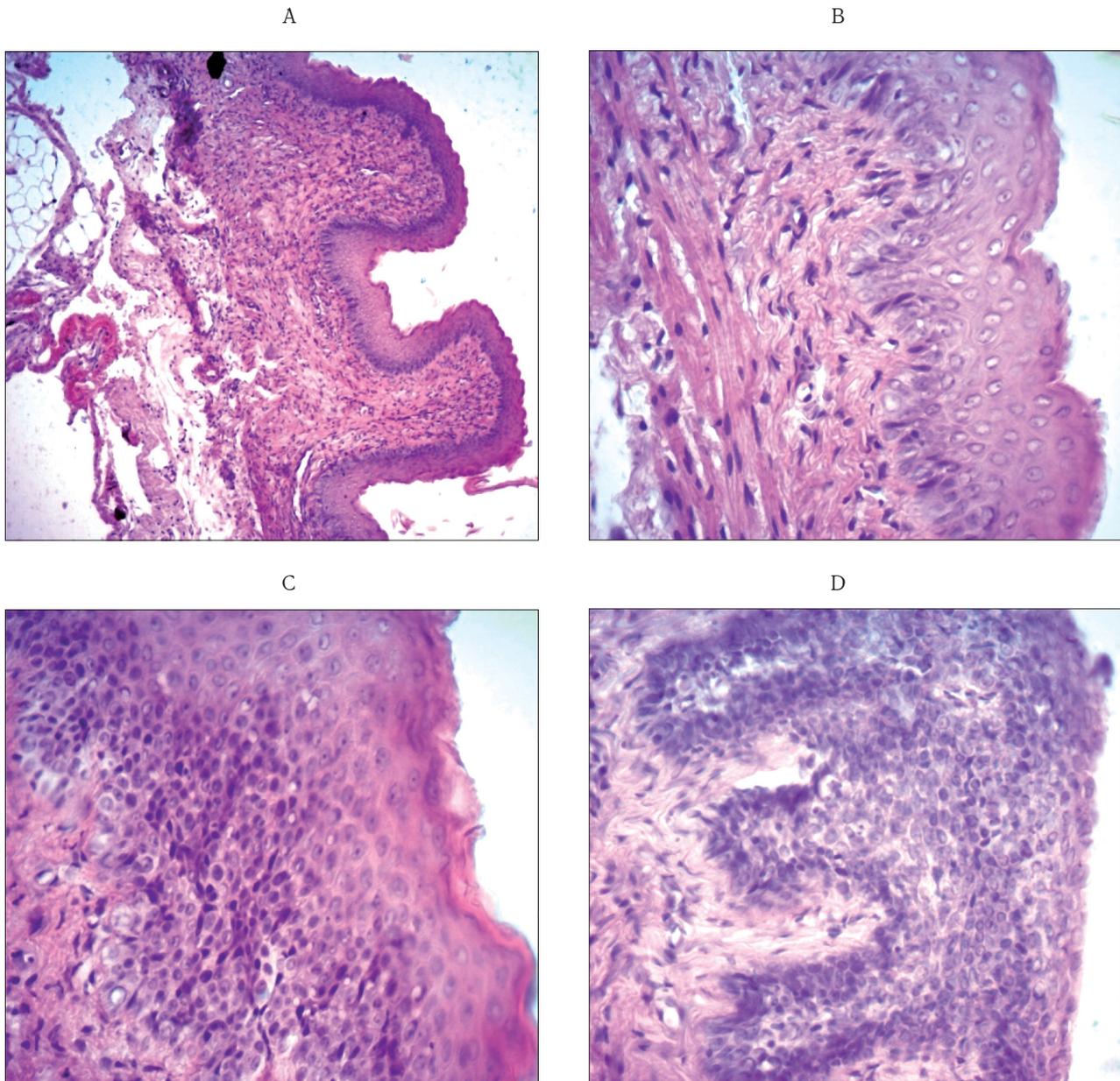
**Рис. 2.** Гистологические изменения слизистой оболочки влагалища крыс с индуцированным вагинитом без лечения: А — субтотальный язвенный дефект значительной протяженности (ув. 100); В — некроз, воспалительная инфильтрация (ув. 400); С — очаг акантоза в эпителии по периферии зон некроза и язв (показан стрелкой) (ув. 400); D — очаг акантолизиса в эпителии по периферии зон некроза и язв (показан стрелкой) (ув. 400)

**Fig. 2.** Histological changes of the vaginal mucosa in rats with induced vaginitis without treatment: А — subtotal ulcer defect of considerable length (magn. 100x); В — necrosis, inflammatory infiltration (magn. 400x); С — focus of acanthosis along the periphery of necrosis and ulcer areas (shown by the arrow) (magn. 400x); D — focus of acantholysis in the epithelium on the periphery of necrosis and ulcers (shown by the arrow) (magn. 400x)

Результаты исследования морфофункционального состояния СОВ крыс после лечения вагинальными суппозиториями с ГЭЛШЛ в дозе 8.5 мг/кг свидетельствуют о регенерации эпителия на всем протяжении и восстановлении трехслойности эпителия в большей части эпителиального пласта. Дистрофические изменения выявлялись в небольшом количестве эпителиаль-

of the epithelium layer to 68.3 [59.1–78.5]  $\mu\text{m}$ , with the predominance of the epithelial component over the stromal one (see Table) (Fig. 3).

In the group of animals receiving GSLSE vaginal suppositories in a dose of 4.3 mg/kg, at the time of completion of the experiment, the epithelial sheet structure was adjusted to the parameters of the control group in absolute and relative values. Epi-



**Рис. 3.** Гистологические изменения слизистой оболочки влагалища крыс, получавших суппозитории с ГЭЛШЛ в дозе 8.5 мг/кг:

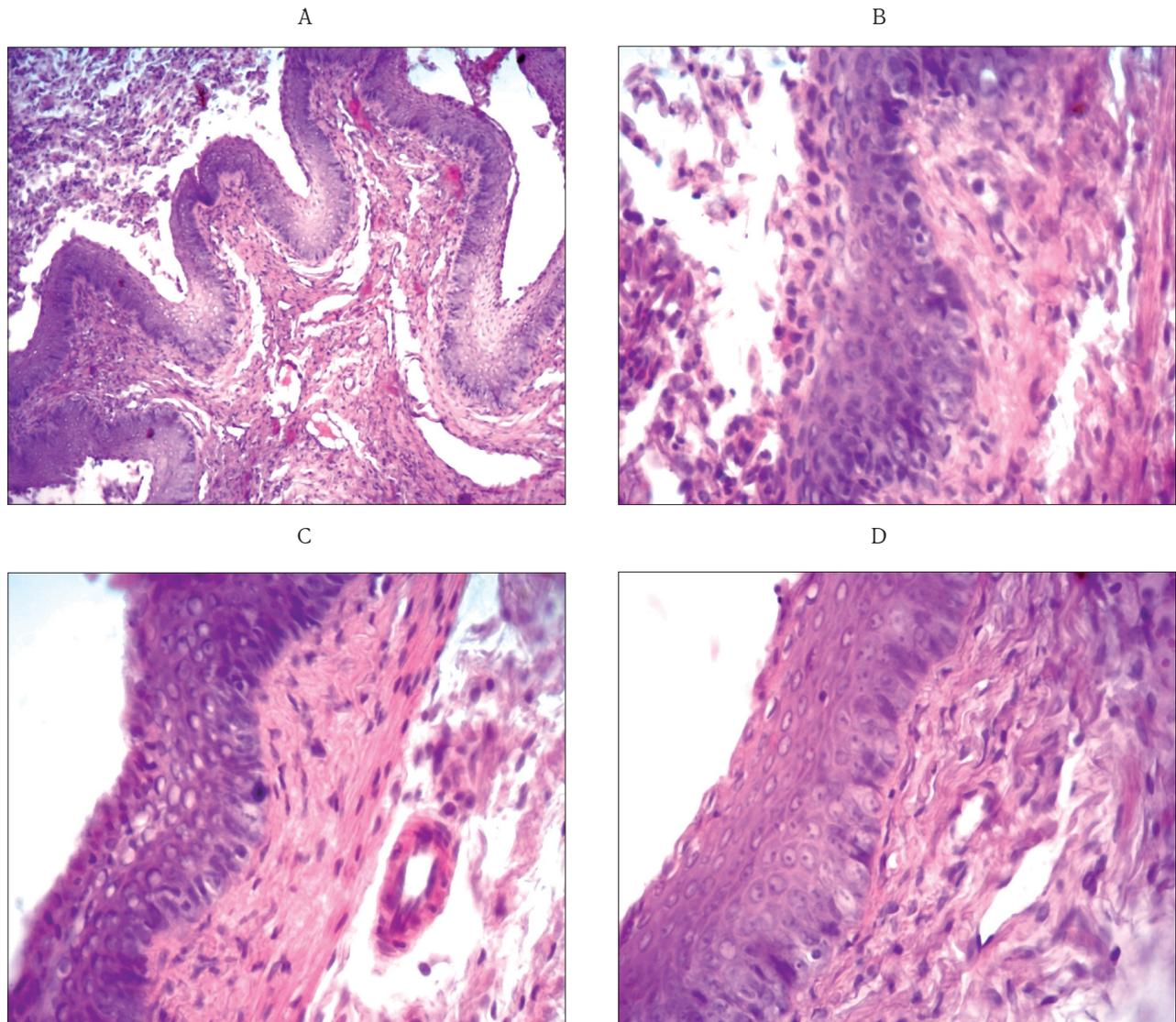
А, В — регенерация эпителия на всем протяжении, восстановление трехслойности эпителия (А — ув. 100, В — ув. 400); С, D — базальноклеточная гиперплазия и утолщение пласта эпителия (ув. 400)

**Fig. 3.** Histological changes in the vaginal mucosa in rats treated with GSLSE suppositories in a dose of 8.5 mg/kg:

А, В — regeneration of epithelium throughout, restoration of three-layer epithelium (А — magn. 100x, В — magn. 400x); С, D — basal cell hyperplasia and thickening of epithelium layer (magn. 400x)

ных клеток. Значительно снижались степень патологических изменений, нарушений кровообращения, объем воспалительных инфильтратов. Одновременно, по сравнению с группой контроля, были обнаружены признаки гиперрегенерации, в виде базальноклеточной гиперплазии и утолщения пласта эпителия до 68.3 [59.1–78.5] мкм, с преобладанием эпителиального компонента над стромальным (см. таблицу) (рис. 3).

thelial thickness was 65.06 [38.2–89.4]  $\mu\text{m}$  with that was close to normal epithelium and stroma ratio of lamina propria of vaginal mucous layer. The epithelial layer had a clear distribution into layers. The cell substrate (horny scales, leukocytes, single epithelial cells) in the vaginal lumen corresponded the metoestrus phase of the oestrous cycle, indicating the restoration of morphofunctional activity of



**Рис. 4.** Гистологические изменения слизистой оболочки влагалища крыс, получавших суппозитории с ГЭЛШЛ в дозе 4.3 мг/кг:

А, В — эпителиальный пласт с четким распределением на слои, ороговевшие чешуйки, лейкоциты, единичные эпителиальные клетки в просвете влагалища (А — ув. 100, В — ув. 400);

С, D — восстановление трехслойности эпителия, минимальные признаки повреждения (ув. 400)

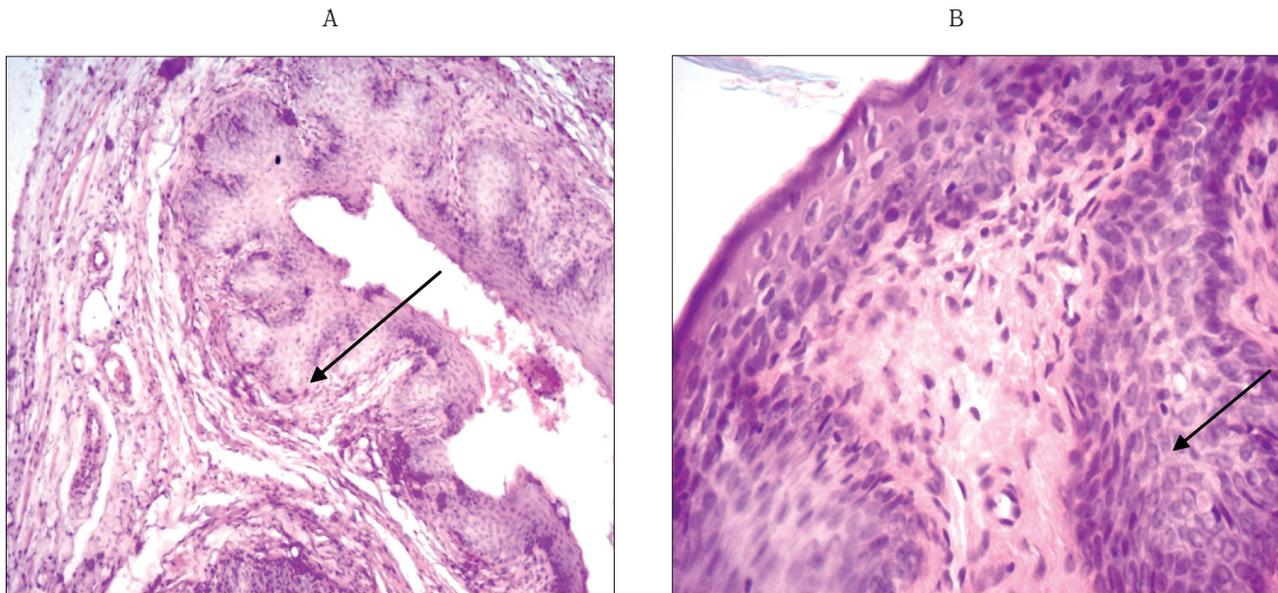
**Fig. 4.** Histological changes in the vaginal mucosa in rats treated with GSLSE suppositories in a dose of 4.3 mg/kg:

A, B — epithelial layer with a clear distribution of layers, horny scales, leukocytes, single epithelial cells in the vaginal lumen (A — magn. 100x, B — magn. 400x); C, D — restoration of three-layer epithelium with minimal signs of damage (magn. 400x)

В группе животных, получавших вагинальные суппозитории с ГЭЛШЛ в дозе 4.3 мг/кг, на момент завершения эксперимента структура эпителиального пласта приближалась к показателям группы контроля в абсолютных и относительных величинах. Толщина эпителия составила 65.06 [38.2–89.4] мкм с близким к норме соотношением эпителия и стромы собственной пластинки слизистого слоя влагалища. У эпителиального пласта было четкое распределение на слои. Клеточный субстрат (ороговевшие

the epithelium with the resumption of hormonal dependent cyclic changes (Fig. 4).

After treatment with a reference medicine (sea-buckthorn oil suppositories), animals experienced prolonged epithelium regeneration with the formation of spread acanthosis and thickening of the epithelium to 76.6 [48.7–107.1]  $\mu\text{m}$ , dystrophic changes of epitheliocytes and the focal basal hyperplasia was noted in the epithelium, although the three-layer structure of the epithelium was gener-



**Рис. 5.** Гистологические изменения слизистой оболочки влагалища крыс, получавших суппозитории с облепиховым маслом:

А, В — распространенный акантоз (показано стрелкой), утолщение эпителия, дистрофические изменения эпителиоцитов, очаговая базальная гиперплазия (А — ув. 100, В — ув. 400)

**Fig. 5.** Histological changes of the vaginal mucosa in rats receiving sea-buckthorn oil suppositories:

A, B — extensive acanthosis (shown by the arrow), thickening of epithelium, dystrophic changes of epitheliocytes, focal basal hyperplasia (A — magn. 100x, B — magn. 400x)

чешуйки, лейкоциты, единичные эпителиальные клетки) в просвете влагалища соответствовал фазе метаэструс эстрального цикла, что свидетельствует о восстановлении морфофункциональной активности эпителия с возобновлением гормонально зависимых циклических изменений (рис. 4).

После лечения референтным препаратом (суппозитории с облепиховым маслом) у животных отмечалась затяжная регенерация эпителия с формированием распространенного акантоза и утолщением эпителия до 76.6 [48.7–107.1] мкм, в эпителиальном пласте отмечались дистрофические изменения эпителиоцитов, очаговая базальная гиперплазия, хотя в целом трехслойная структура эпителиального пласта была восстановлена на значительном протяжении (рис. 5), соотношение стромы и эпителия было близко к 1 : 1 (см. таблицу).

В группе крыс, получавших препарат сравнения «Метронидазол», выявлена эпителизация зон повреждения на всем протяжении, однако регенерация эпителия была неполноценной, восстановление трехслойной структуры эпителия было частичным, в отдельных полях зрения определялось значительное количество эпителиоцитов с дистрофическими изменениями (см. таблицу). Толщина эпителиального пласта не до-

статочно восстановлена (рис. 5), соотношение стромы к эпителию было близко к 1 : 1 (см. таблицу).

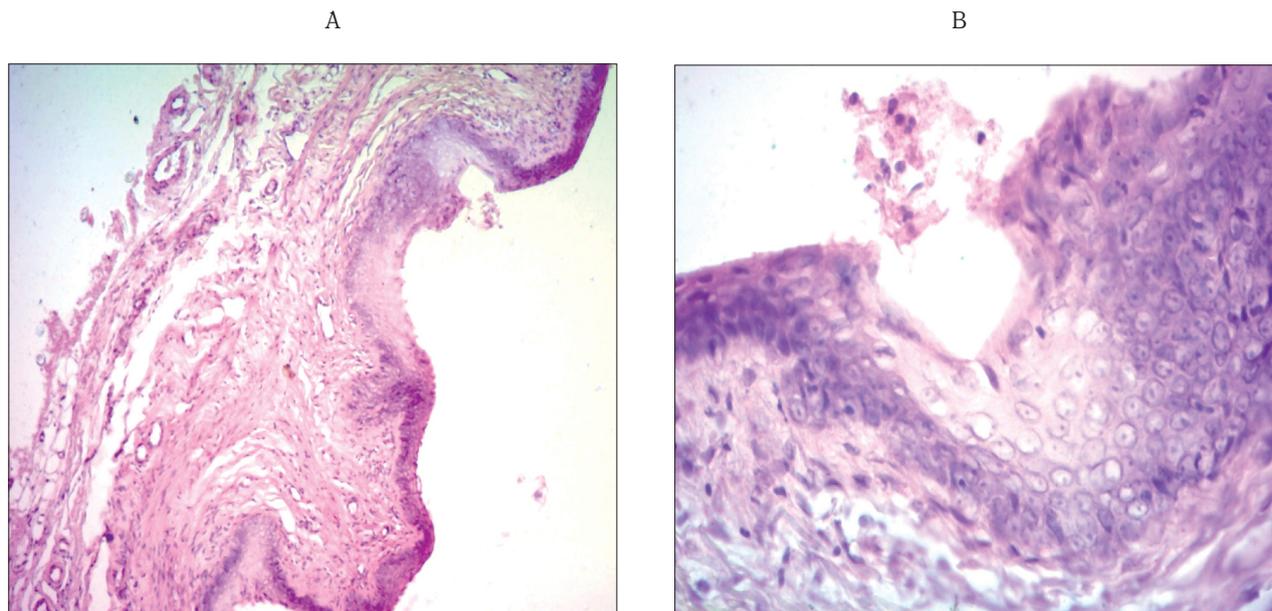
В группе крыс, получавших препарат сравнения Метронидазол, эпителизация зон повреждения была обнаружена на всем протяжении, но регенерация эпителия была неполноценной, восстановление трехслойной структуры эпителия было частичным, и значительное количество эпителиоцитов с дистрофическими изменениями было обнаружено в полях зрения (см. таблицу). Толщина эпителиального пласта не достигла значений контрольной группы (43.3 [34.7–55.6] мкм). Умеренный акантоз был обнаружен (рис. 6).

## CONCLUSION

The following conclusions can be drawn from the study:

1. Treatment with GSLSE vaginal suppositories in a dose of 4.3 mg/kg contributes to the restoration of VM of experimental animals with induced vaginitis, which is confirmed by the results of the morphological study of VM.

2. In terms of therapeutic action efficacy, GSLSE vaginal suppositories are superior to reference preparations such as vaginal suppositories Metronidazole and sea-buckthorn oil suppositories.



**Рис. 6.** Гистологические изменения слизистой оболочки влагалища крыс, получавших препарат сравнения «Метронидазол»:

А — эпителизация зон повреждения с частичным восстановлением трехслойной структуры эпителиа (ув. 100);  
 В — умеренно выраженный акантоз, дистрофические изменения эпителиоцитов (ув. 400)

**Fig. 6.** Histological changes of the vaginal mucosa in rats receiving the reference preparation Metronidazole:  
 А — epithelization of the disturbed areas with partial restoration of the three-layer structure of the epithelium (magn. 100x); В — moderately expressed acanthosis, dystrophic changes of epitheliocytes (magn. 400x)

стигала показателей контрольной группы (43.3 [34.7–55.6] мкм). Отмечался умеренно выраженный акантоз (рис. 6).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Фармакотерапия лекарственным препаратом в виде суппозиторий вагинальных с ГЭЛШЛ в дозе 4.3 мг/кг способствует восстановлению СОВ экспериментальных животных с индуцированным вагинитом, что подтверждено результатами морфологического исследования СОВ.

2. По эффективности лечебного действия суппозитории вагинальные с ГЭЛШЛ превосходят препараты сравнения — суппозитории вагинальные «Метронидазол» и суппозитории с облепиховым маслом.

3. Полученные результаты дают основания для дальнейшего углубленного изучения ново-

3. The obtained results provide the basis for further in-depth study of the new medicine, with its subsequent introduction into clinical practice with the aim of expanding the range of domestic medicines for treatment of infectious and inflammatory diseases of lower female genital tract.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

го препарата, с последующим внедрением его в клиническую практику с целью расширения ассортимента отечественных лекарств для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний нижнего отдела женского полового тракта.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинекология: учебник / Б.И. Баисова и др.; под ред. Г.М. Савельевой, В.Г. Бреусенко. 4-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 432 с.
2. Kenyon C.R., Osbak K. Recent progress in understanding the epidemiology of bacterial vaginosis // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2014. Vol. 26 (6). P. 448–454.

## REFERENCES

1. Baisova B.I. et al. (2014). *Gynecology: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media, 432 p. In Russ.
2. Kenyon C.R., Osbak K. (2014). Recent progress in understanding the epidemiology of bacterial vaginosis. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 26 (6), 448–454.

3. Юнусова И.А., Передерий Е.А., Грохотова К.А. Маркетинговые исследования фармацевтического рынка интравагинальных лекарственных форм в России // Евразийское научное объединение. 2019. № 3 (50). С. 181–182.
4. Council Directive 86/609/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official J. L 358. 1986 Dec., 18. P. 1–28.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes / Council of Europe. Strasbourg, 1986. 48 p.
6. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Доклады АН СССР. 1979. Т. 247, № 6. С. 1513–1516.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.
8. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина, 2002. 240 с.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Юнусова Инна Алексеевна** — аспирант кафедры технологии лекарств, организации и экономики фармации ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

**Передерий Евгений Алексеевич** — канд. фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой технологии лекарств, организации и экономики фармации ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

**Телешова Ольга Васильевна** — канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины и правоповедения ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

**Бургело Елена Викторовна** — ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины и правоповедения ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

**Горяникова Инна Николаевна** — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины и правоповедения ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки».

**Образец цитирования:** Юнусова И.А., Передерий Е.А., Телешова О.В., Бургело Е.В., Горяникова И.Н. Оценка эффективности новых вагинальных суппозиторий с густым экстрактом листьев шалфея лекарственного при лечении неспецифического вагинита в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 89–99.

3. Yunusova I.A., Perederiy E.A., Grokhotov K.A. (2019). Marketing research of the pharmaceutical market of intravaginal drug dosage forms in Russia. *Eurasian Scientific Association*, 3 (50), 181–182. In Russ.
4. Council Directive 86/609/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (1986, Dec 18). *Official J. L 358*, 1–28.
5. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*. Council of Europe (1986). Strasbourg, 48 p.
6. Rybolovtsev Yu.R., Rybolovtsev R.S. (1979). Dosing of substances for mammals according to the constant of biological activity. *Reports of the Academy of Sciences of the USSR*, 247, 6, 1513–1516. In Russ.
7. Khabriev R.W. (ed.) (2005). *Manual on Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacologic Substances*. Moscow: Medicine, 832 p. In Russ.
8. Avtandilov G.G. (2002). *Foundations of Quantitative Pathological Anatomy*. Moscow: Medicine, 240 p. In Russ.

### ABOUT THE AUTHORS

**Yunusova Inna Alekseyevna** — Post-Graduate Student, Department of Drug Technology, Organization and Economics of Pharmacy, St. Luka Lugansk State Medical University.

**Perederiy Evgeniy Alekseyevich** — Cand. Sci. (Pharmaceut.), Assistant Professor, Head, Department of Drug Technology, Organization and Economics of Pharmacy, Saint Luka Lugansk State Medical University.

**Teleshova Olga Vasilyevna** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine and Legal Science, Saint Luka Lugansk State Medical University.

**Burgelo Elena Victorovna** — Assistant, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine and Legal Science, Saint Luka Lugansk State Medical University.

**Goryanikova Inna Nikolayevna** — Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine and Legal Science, Saint Luka Lugansk State Medical University.

**Citation example:** Yunusova I.A., Perederiy E.A., Teleshova O.V., Burgelo E.V., Goryanikova I.N. (2020). Evaluation of the efficacy of new vaginal suppositories with garden sage leaves solid extract in treatment of non-specific vaginitis in experiment. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 89–99.

## Изучение высвобождения действующих веществ из гемостатического средства на гидрофильной основе

Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Екатеринбург)

## The study of the release of active substances from hemostatic agent on hydrophilic basis

Barsukova Yu.N., Melnikova O.A.

Ural State Medical University (Yekaterinburg)

### АННОТАЦИЯ

Изучена кинетика высвобождения действующих веществ (кислоты аминкапроновой и хлорида железа (III)) из мягкой лекарственной формы с включением в состав наночастиц железа и без их включения. Кислоту аминкапроновую определяли методом прямой спектрофотометрии при длине волны 568 нм; хлорид железа (III) — фотометрически по реакции комплексообразования с сульфосалициловой кислотой при длине волны 510 нм. Валидация разработанной методики проводилась по таким параметрам, как специфичность, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, правильность, прецизионность аналитического метода. Наилучшие результаты по высвобождению действующих веществ получены в образцах мазей с наночастицами железа — выявлено статистически достоверное отличие от показателей высвобождения из контрольных образцов ( $p < 0.05$ ).

**Ключевые слова:** гемостаз, кривая высвобождения, наночастицы, лекарственная форма, валидация.

### ABSTRACT

The kinetics of the release of active substances (aminocaproic acid and iron (III) chloride) from a semisolid dosage form with and without inclusion of iron nanoparticles has been studied. Aminocaproic acid was determined by direct spectrophotometry at a wavelength of 568 nm, iron (III) chloride was determined photometrically from the complexation reaction with sulfosalicylic acid at a wavelength of 510 nm. Validation of the developed methods was carried out by such parameters, as specificity, detection limit, limit of quantification, linearity, correctness, precision of the analytical method. The best results on the release of active substances have been obtained in samples of ointments with iron nanoparticles which was statistically significantly different from the parameters of release from control samples ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** hemostasis, release curve, nanoparticles, drug dosage form, validation.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно множество препаратов и их комбинаций, обладающих гемостатической активностью при местной аппликации, которые широко используются для остановки кровотечений различного вида [1, 2]. Однако гемостатических средств для оказания качественной лекарственной медицинской помощи недо-

### INTRODUCTION

Nowadays there are many well-known preparations and combinations obtaining hemostatic activity in local application which are widely used to stop bleeding of various types [1, 2]. However, hemostatic agents are not enough to provide high-quality medicinal medical care [3]. The requirements for

Поступила 13.11.2019  
Принята 25.11.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Барсукова Юлия Николаевна: ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.  
E-mail: iulija.barsukova@yandex.ru

Received 13.11.2019  
Accepted 25.11.2019

\*Corresponding author  
Barsukova Yulia Nikolayevna: Ural State Medical University, 3, Repina Str., Yekaterinburg, 620028, Russia.  
E-mail: iulija.barsukova@yandex.ru

статочны [3]. К требованиям, предъявляемым к таким средствам, можно отнести достаточную эффективность, безопасность, простоту использования и доступную стоимость [4]. При разработке состава гемостатического средства брали во внимание тот факт, что ионы трехвалентного железа при контакте с кровью вызывают мгновенное осаждение белков крови, тем самым формируя сгусток. Также вероятность развития аллергических реакций на ион железа крайне низкая, ввиду присутствия данного иона в организме человека [5]. Аминокапроновая кислота в составе лекарственной формы ингибирует активаторы профибринолизина и тормозит его превращение в фибринолизин; стимулирует образование тромбоцитов, сенсибилизирует тромбоцитарные рецепторы к тромбину, тромбоксану  $A_2$  и другим эндогенным агрегантам; оказывает системный гемостатический эффект при кровотечениях, обусловленных повышенной фибринолитической активностью плазмы [6]. С целью улучшения фармакологической активности в состав лекарственной формы были введены наночастицы железа [7, 8].

Преимуществом мягких форм для остановки кровотечений является удобство и простота применения, равномерное нанесение на раневую поверхность любого рельефа, что дает возможность пациентам самостоятельно наносить лекарственное средство при местных кровотечениях. Следовательно, разработан состав многокомпонентного средства, обладающего активным гемостатическим (за счет введения в состав аминокапроновой кислоты и хлорида железа) и ранозаживляющим действием (за счет введения наночастиц железа) в мягкой лекарственной форме [9].

Важным показателем качества мазей является способность обеспечивать биологическую доступность лекарственного вещества [10]. Для этого должна быть оценена способность лекарственного вещества к высвобождению из мазевой основы.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение степени высвобождения кислоты аминокапроновой и хлорида железа (III) из мягкой лекарственной формы с включением в состав наночастиц железа методом равновесного диализа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состав исследуемого гемостатического средства представлен в табл. 1.

such means can include adequate efficiency, safety, ease of use and affordable cost [4]. When developing the hemostatic formulation, the fact that ferric ions in contact with blood cause instantaneous precipitation of blood proteins, thereby forming a clot, was taken into consideration. Also, the probability of developing allergic reactions to iron ion is extremely low, due to the presence of this ion in the human body [5]. Aminocaproic acid in the dosage form inhibits profibrinolysin activators and its transformation to fibrinolysin; it stimulates platelet formation, sensitizes platelet receptors to platelet, thromboxane  $A_2$  and other endogenous aggregates; has systemic hemostatic effect in bleeding caused by increased fibrinolytic plasma activity [6]. Iron nanoparticles were added to the dosage form to improve pharmacological activity [7, 8].

The advantage of semisolid dosage forms for stopping bleeding is convenience and simplicity of application, overall application on the wound surface of any relief which allows patients to apply the drug themselves in case of local bleeding. Therefore, multicomponent formulation having active hemostatic (owing to addition of aminocaproic acid and iron chloride to the composition) and wound healing effect (due to introduction of iron nanoparticles) in a semisolid dosage form has been developed [9].

An important parameter of the ointments quality is the ability to provide bioavailability of the drug [10]. For this purpose, the drug release ability from the ointment base must be evaluated.

## AIM OF THE RESEARCH

Study of the release degree of aminocaproic acid and iron (III) chloride from a semisolid dosage form with iron nanoparticles by equilibrium dialysis method.

## MATERIALS AND METHODS

The composition of the hemostatic agent is presented in Table 1.

*Equipment:* analytical balances SE224-C (Sartogism, Russia), GOST R 53228, ensuring accuracy of single weighting with limits of permissible absolute error not more than  $\pm 0.5$  mg; spectrophotometer SF-2000 (Biokey, Russia), absolute error of wavelength setting  $\pm 0.8$  nm; photometer KFK-3 (Zagorsky Optical-Mechanical Plant, Russia), absolute error of wavelength setting  $\pm 3.0$  nm.

*Reagents:* iron (III) chloride 6-hydrate (chemically pure (c.p.), Brom, Russia), GOST 4147-74; aminocaproic acid (Polisintez, Russia), GOST 7850-

**Таблица 1.** Состав гемостатического средства  
**Table 1.** The composition of the hemostatic agent

Ингредиент / Ingredient	Нормативная документация / Regulatory documentation	Масса, г / Weight, g
Кислота аминокaproновая Aminocaproic acid	ФС.2.1.0001.15, ГФ XIII изд-е / PM.2.1.0001.15, SP XIII ГОСТ 7850-2013 / GOST 7850-2013	5.0
Хлорид железа (III) Iron (III) chloride	ТУ 2152-003-68879995-2014 / TC 2152-003-68879995-2014 ГОСТ 4147-74 / GOST 4147-74	5.0
Полиэтиленгликоль — 400 Polyethylene glycol — 400	ТУ 2481-008-71150986-2006 / TC 2481-008-71150986-2006	74.4
Полиэтиленгликоль — 1000 Polyethylene glycol — 1000	ТУ 2481-008-71150986-2006 / TC 2481-008-71150986-2006	18.6
Наночастицы Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Nanoparticles Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	ГОСТ Р 57909-2017 / GOST Р 57909-2017	0.01

Примечание. ФС — фармакопейная статья; ГФ — Государственная фармакопея; ТУ — техническое условие; ГОСТ — Государственный стандарт.

Note. PM — pharmacopoeial monograph; SP — State Pharmacopoeia; TC — technical condition; GOST — Federal Standard.

**Оборудование:** весы аналитические СЕ224-С (ООО «Сартогосм», Россия), ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность однократного взвешивания с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более  $\pm 0.5$  мг; спектрофотометр СФ-2000 (Биокей, Россия), абсолютная погрешность установки длины волны  $\pm 0.8$  нм; фотометр КФК-3 ЗОМЗ (ЗАО «Загорский оптико-механический завод», Россия), абсолютная погрешность установки длины волны  $\pm 3.0$  нм.

**Реактивы:** хлорид железа III 6-водный (химически чистый (х. ч.)), ОАО «Бром», Россия, ГОСТ 4147-74; кислота аминокaproновая (ООО «Полисинтез», Россия), ГОСТ 7850-2013; вода очищенная, ФС.2.2.0020.15; полиэтиленгликоль (ПЭГ) — 400 (ТУ 2481-008-71150986-2006), ПЭГ-1000 (ТУ 2481-008-71150986-2006); спирт этиловый 95% (ООО «Гиппократ», Россия), ФС-000737; диметилформамид (ДМФА) (х. ч., ООО «Югреактив», Россия), ГОСТ 20289-74; нингидрин (х. ч., ООО «Югреактив», Россия), с массовой долей основного вещества не менее 95 %; кислота аскорбиновая (х. ч., ООО «Полисинтез», Россия); натрий фосфорно-кислый двузамещенный 12-водный (ООО «Хим», Россия), ГОСТ 4172-76; калий фосфорно-кислый однозамещенный (ООО «Югреактив», Россия), ГОСТ 4198-75; кислота сульфосалициловая 2-водная (х. ч., 25% раствор, ЗАО «Ереванский завод химреактивов», Армения); квасцы железозамещенные (ЖАК) (чистые, ЗАО «НПО ЭКРОС», Россия); кислота серная (х. ч., 0,05 М раствор, ООО «Химитекс», Россия); кислота азотная (х. ч., ООО «ХимТТ», Россия).

Для изучения высвобождения действующих веществ (аминокaproновой кислоты и хлори-

да 2013; the purified water, Pharmacopoeial monograph (PM).2.2.0020.15; polyethylene glycol (PEG) 400 (Technical condition (TC) 2481-008-71150986-2006), PEG-1000 (TC 2481-008-71150986-2006), 95% ethyl alcohol (Hypocrat, Russia), PM-000737; dimethylformamide (DMF) (c.p., Ugreaktiv, Russia), GOST 20289-74; ninhydrin (c.p., Ugreaktiv, Russia), with a mass fraction of the main substance of not less than 95%; ascorbic acid (c.p., Polisintez, Russia); sodium phosphate dibasic 12-hydrate (Chim, Russia), GOST 4172-76; potassium phosphate monobasic (Ugreaktiv, Russia), GOST 4198-75; sulfosalicylic acid 2-hydrate (c.p., 25% solution, Yerevan Chemicals Plant, Armenia); ferrous ammonium sulfate (FAS) (pure, NPO ECROS, Russia); sulfuric acid (c.p., 0.05 M solution, Himiteks, Russia); nitric acid (c.p., Himtt, Russia).

To study the release of active substances (aminocaproic acid and iron chloride) from the studied composition, the method of equilibrium dialysis according to Krówczynski was used [11]. Purified water was used as the receiving solution. The choice of release medium was due to the ability of the active ingredients to easily dissolve in the solvent. The system was thermostatted at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , 5.0 ml samples were taken after 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240 min, 12 and 24 h, replenishing the volume of the receiving solution.

The alloy of PEG-400 and PEG-1000 in ratio 4 : 1 selected earlier by Harrington's desirability function was used as the base of hemostatic ointment. Values such, as organoleptic properties (appearance and consistency, smell, color); Casson plastic viscosity, Pa · S effective viscosity, kPa; quantitative content of active substances, %; par-

да железа) из изучаемого состава использовался метод равновесного диализа по Крувчинскому [11]. В качестве приемного раствора применялась вода очищенная. Выбор среды высвобождения был обусловлен способностью действующих веществ легко растворяться в данном растворителе. Система термостатировалась при температуре  $37 \pm 1$  °С, пробы объемом 5.0 мл отбирали через 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240 мин, 12 и 24 ч, восполняя объем приемного раствора.

В качестве основы гемостатической мази использован сплав ПЭГ-400 и ПЭГ-1000 в соотношении 4 : 1, выбранный ранее путем построения функции желательности Харрингтона. При построении данной кривой брали в расчет такие показатели, как органолептические свойства (внешний вид и консистенция, запах, цвет); пластическая вязкость модели Кэссона, Па · с; эффективная вязкость, кПа; количественное содержание действующих веществ, %; размер частиц мягкой лекарственной формы, мкм.

Эксперимент проводили по следующей методике: в коническую колбу объемом 100 мл помещали точную навеску 5.0 мл исследуемой композиции. Растворяли ее в необходимом объеме модельной среды (вода очищенная). Объем воды очищенной соответствовал такому количеству, чтобы навеска мази могла переходить в растворенное состояние. Колбу с раствором перемешивали на водяной бане при 37 °С со скоростью 50 об./мин. Степень и скорость десорбции лекарственных веществ (аминокапроновой кислоты и хлорида железа) изучали спектрофотометрически и фотометрически соответственно. Отбор проб для анализа осуществляли через определенные промежутки времени, определяли оптическую плотность раствора и высчитывали концентрацию в пробе относительно модельной среды. Длительность эксперимента по изучению высвобождения действующих веществ составила 24 ч. Опыт проводили с 5-кратным повторением на трех навесках мази одного образца. Параллельно проводили контрольный опыт с мазью без наночастиц железа.

Нами использовалась модель, при которой каждая отобранная проба анализируемого раствора заменяется свежей порцией модельной среды того же объема. Такая модель позволяет приблизиться к реальным условиям, когда часть действующего вещества уходит с кровотоком в организм пациента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 2. По результатам экспе-

риментальной кривой, характеризующей размер частиц титана в дозированной форме,  $\mu\text{m}$ , были приняты во внимание при построении этой кривой.

Эксперимент был проведен согласно следующей процедуре: точная навеска 5.0 мл состава была помещена в 100 мл коническую колбу. Она была растворена в необходимом объеме модельной среды (очищенная вода). Объем очищенной воды был таким, чтобы состав мог быть растворен. Раствор в колбе был перемешан в водяной бане при температуре до 37 °С с 50 оборотами в минуту. Степень и скорость десорбции лекарственных веществ (аминокапроновой кислоты и хлорида железа) изучали спектрофотометрически и фотометрически соответственно. Отбор проб для анализа осуществляли через определенные промежутки времени, определяли оптическую плотность раствора и высчитывали концентрацию в пробе относительно модельной среды. Длительность эксперимента по изучению высвобождения действующих веществ составила 24 ч. Контрольный эксперимент с мазью без наночастиц железа был проведен параллельно.

Авторы статьи использовали модель, в которой каждая проба анализируемого раствора заменяется свежей порцией модельной среды того же объема. Такая модель позволяет приблизиться к реальным условиям, когда часть действующего вещества уходит с кровотоком в организм пациента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные из исследования представлены в табл. 2. Согласно результатам эксперимента, соответствующие кинетические кривые построены (рис. 1).

Согласно рис. 1, кинетическая кривая высвобождения действующих веществ в начальной стадии эксперимента не достигает высоких значений. Постепенное увеличение концентрации действующих веществ в диализате в первые часы эксперимента наблюдается: 46.89% ( $2.3445 \pm 0.106$  г) аминокапроновой кислоты и 62.08% ( $3.1040 \pm 0.091$  г) хлорида железа было высвобождено в первый час, 79.75% ( $3.9875 \pm 0.175$  г) и 96.94% ( $4.8471 \pm 0.063$  г) соответственно высвобождено в 4 ч, а через 12 ч высвобождение составило 85.24% ( $4.2620 \pm 0.173$  г) и 98.56% ( $4.9281 \pm 0.051$  г) соответственно. Было выявлено следующее соотношение: хлорид железа высвобождается более полно и быстро, аминокапроновая кислота характеризуется медленным и длительным высвобождением. Биодоступность в контрольных образцах довольно низкая. Таким образом, можно сделать вывод о роли наночастиц железа в составе дозированной формы, а именно о том, что они обеспечивают пролонгацию гемостатического эффекта.

Таким образом, в ходе эксперимента было обнаружено, что разработанная композиция гемостатического средства обеспечивает пролонгацию гемостатического эффекта.

**Таблица 2.** Высвобождение действующих веществ из гемостатической мази с наночастицами — концентрация вещества в диализате**Table 2.** Release of active substances from hemostatic ointment with nanoparticles — concentration of substance in dialysate

Время, мин Time, min	Аминокапроновая кислота Aminocaproic acid		Хлорид железа Iron chloride		Аминокапроновая кислота (контроль) Aminocaproic acid (control)		Хлорид железа (контроль) Iron chloride (control)	
	%	г / g	%	г / g	%	г / g	%	г / g
10	10.31	0.5155 ± 0.185	21.84	1.0920 ± 0.196	9.91	0.4955 ± 0.212	13.18	0.6590 ± 0.041
20	25.54	1.2271 ± 0.091	30.96	1.5481 ± 0.153	10.76	0.5380 ± 0.067	20.46	1.0230 ± 0.012
30	32.64	1.6322 ± 0.035	41.58	2.0797 ± 0.091	20.90	1.0450 ± 0.012	25.28	1.2640 ± 0.206
40	35.24	1.762 ± 0.012	45.35	2.2675 ± 0.041	35.42	1.7710 ± 0.075	30.39	1.5195 ± 0.012
50	42.25	2.1132 ± 0.135	55.87	2.7935 ± 0.155	41.75	2.0875 ± 0.206	35.58	1.7791 ± 0.012
60	46.89	2.3445 ± 0.106	62.08	3.1040 ± 0.091	42.59	2.1295 ± 0.173	39.19	1.9595 ± 0.012
90	52.46	2.6230 ± 0.196	70.65	3.5325 ± 0.098	45.50	2.2750 ± 0.206	41.56	2.0782 ± 0.061
120	59.51	2.9755 ± 0.041	80.96	4.0480 ± 0.075	50.25	2.5125 ± 0.197	43.56	2.1780 ± 0.154
150	66.10	3.3050 ± 0.061	90.58	4.5291 ± 0.173	52.87	2.6435 ± 0.090	45.25	2.2625 ± 0.173
180	75.83	3.7915 ± 0.075	96.86	4.8432 ± 0.169	53.15	2.6575 ± 0.019	49.05	2.4525 ± 0.041
240	79.75	3.9875 ± 0.175	96.94	4.8471 ± 0.063	50.86	2.5430 ± 0.091	50.78	2.5390 ± 0.012
720	85.24	4.2620 ± 0.173	98.56	4.9281 ± 0.051	49.47	2.4735 ± 0.206	48.57	2.4285 ± 0.061
24 ч / h	89.85	4.4925 ± 0.196	98.95	4.9475 ± 0.041	48.58	2.4290 ± 0.029	46.59	2.3295 ± 0.019

римента построены соответствующие кинетические кривые (рисунок).

Как видно из рисунка, кинетическая кривая зависимости высвобождения действующих веществ от времени на начальном этапе эксперимента не достигает высоких значений. Наблюдается постепенное нарастание концентрации вещества в диализате в течение первых часов проведения эксперимента: за первый час высвободилось 46.89 % (2.3445 ± 0.106 г) аминокапроновой кислоты и 62.08 % (3.1040 ± 0.091 г) хлорида железа, через 4 ч — 79.75 % (3.9875 ± 0.175 г) и 96.94 % (4.8471 ± 0.063 г) соответственно, а через 12 ч высвобождение составило 85.24 % (4.2620 ± 0.173 г) и 98.56 % (4.9281 ± 0.051 г) соответственно. Выявлена следующая зависимость: более полно и быстро высвобождается хлорид железа, для аминокапроновой кислоты характерно медленное и более долгое высвобождение. Фармацевтическая доступность в контрольных образцах достаточно низкая — из этого можно сделать вывод о роли наночастиц железа в составе мягкой лекарственной формы, а именно о том, что они обеспечивают пролонгирование гемостатического эффекта.

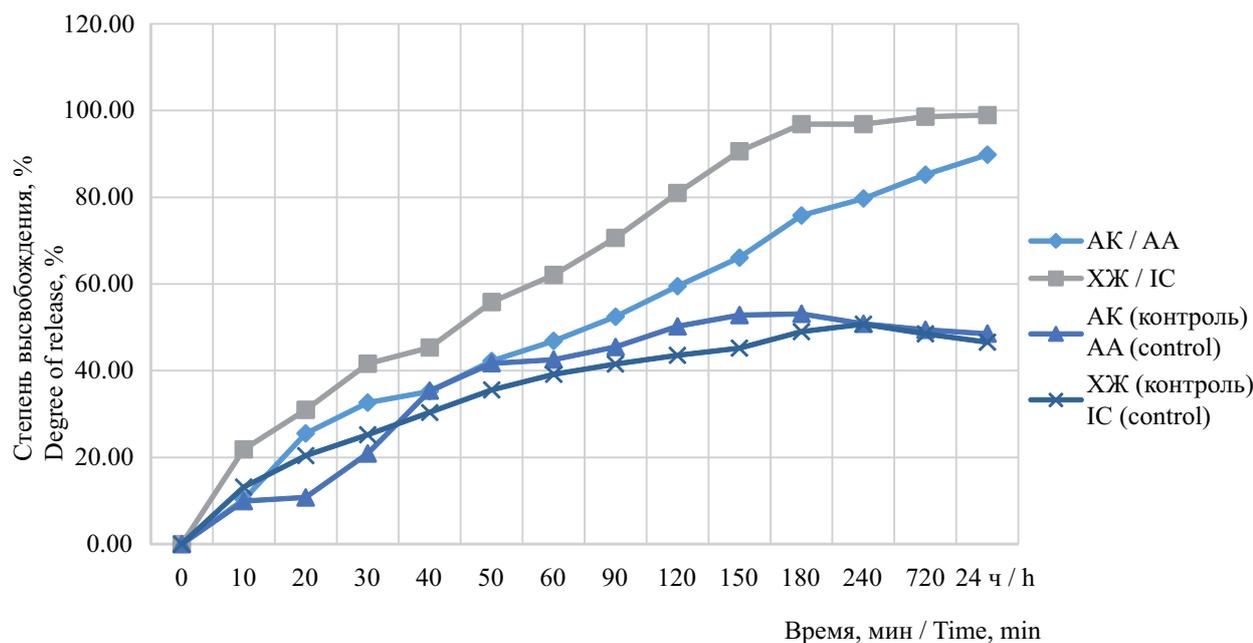
Таким образом, в ходе эксперимента установлено, что разработанный состав гемостатической мази с наночастицами равномерно вы-

ointment with nanoparticles evenly releases the active substances within 24 h.

In order to objectively control the release rate, quantification techniques need to be adapted to the determination of the substance in dialysate. Statistical processing of the results was carried out in accordance with the general pharmacopoeia monograph (GPM) “Statistical processing of experimental results” (State Pharmacopoeia (SP) XIV, GPM.1.1.0013.15). The technique is validated in accordance with GPM “Validation of analytical methods” (SP XIV, GPM.1.1.0012.15) based on parameters of specificity, linearity, correctness, precision.

Quantitative determination of aminocaproic acid in samples was carried out by the adapted method of direct spectrophotometry at wave length of 568 nm according to the method developed by the authors [12]. The data obtained as a result of the spectrophotometric aminocaproic acid determination and their statistical treatment are presented in Table 3.

The quantitative determination of iron (III) chloride in the samples was carried out photometrically by the complexation reaction with sulfosalicylic acid at the wave length 510 nm according to the method described in [13]. The results obtained in the process of the photometric determination of iron chloride and their statistical analysis are presented in Table 4.



Кинетический профиль высвобождения аминокaproносовой кислоты и хлорида железа из мази  
(АК — аминокaproносовая кислота, ХЖ — хлорид железа (III))  
Kinetic profile of aminocaproic acid and iron chloride release from ointment  
(AA — aminocaproic acid, IC — iron (III) chloride)

высвобождает действующие вещества в течение 24 часов.

Для объективного контроля скорости высвобождения методики количественного определения необходимо адаптировать к определению вещества в диализате. Статистическую обработку результатов производили в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) «Статистическая обработка результатов эксперимента» (ГФ XIV, ОФС.1.1.0013.15). Методика валидирована в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» (ГФ XIV, ОФС.1.1.0012.15) по показателям специфичности, линейности, правильности, прецизионности.

Количественное определение аминокaproносовой кислоты в пробах осуществляли адаптированным методом прямой спектрофотометрии при длине волны 568 нм по разработанной нами методике [12]. Полученные в результате спектрофотометрического определения кислоты аминокaproновой данные и их статистическая обработка представлены в табл. 3.

Количественное определение хлорида железа (III) в пробах осуществляли фотометрически по реакции комплексообразования с сульфосалициловой кислотой при длине волны 510 нм по методике, изложенной в [13]. Результаты, полученные в результате фотометрического определения хлорида железа, и их статистическая обработка представлены в табл. 4.

## CONCLUSION

The kinetics of the release of active substances from the hydrophilic base, which is a mixture of PEG-400 and PEG-1000 in the ratio of 4 : 1, was studied by the method of equilibrium dialysis according to Krówczyński. The best results on the release of active substances were obtained in samples of ointments with iron nanoparticles: the statistically significant difference in the release parameters from the control samples was proved ( $p < 0.05$ ).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом равновесного диализа по Кривчинскому исследована кинетика высвобождения действующих веществ из гидрофильной основы, представляющей собой смесь ПЭГ-400 и ПЭГ-1000 в соотношении 4 : 1. Наилучшие результаты по высвобождению действующих веществ получены в образцах мазей с наночастицами железа — установлено статистически достоверное отличие от показателей высвобождения из контрольных образцов ( $p < 0.05$ ).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Таблица 3.** Статистическая обработка результатов спектрофотометрического определения аминокaproновой кислоты в гемостатическом средстве ( $P = 95\%$ ;  $n = 6$ )**Table 3.** Statistical analysis of the results of spectrophotometric determination of aminocaproic acid in hemostatic agent ( $P = 95\%$ ;  $n = 6$ )

Номер образца Number of sample	$A_x$	$A_{cr}$ $A_{st}$	$M_{cr}$ , г $M_{st}$ , g	$X$ , г $X$ , g	$X_{cp}$ , г $X_{av}$ , g	$\Delta X$	$\varepsilon$ , %	$X_{cp} \pm \Delta X$ $X_{av} \pm \Delta X$
1	0.2914	0.2922	0.0480	4.9875				
2	0.2915	0.2922	0.0502	4.9869				
3	0.2916	0.2922	0.0510	4.9888				
4	0.2918	0.2923	0.4994	4.9917	4.9875	0.0028	0.0567	4.9875 ± 0.0567
5	0.2915	0.2923	0.4975	4.9861				
6	0.2913	0.2922	0.5012	4.9837				

Пр и м е ч а н и е.  $P$  — величина доверительного интервала;  $n$  — число параллельных определений;  $A_x$  — оптическая плотность образца;  $A_{cr}$  — оптическая плотность стандарта;  $M_{cr}$  — масса навески стандарта;  $X$  — количественное содержание аминокaproновой кислоты в образце;  $X_{cp}$  — среднее значение количественного содержания аминокaproновой кислоты в образцах;  $\Delta X$  — доверительный интервал;  $\varepsilon$  — относительная ошибка результата отдельного определения.

Note.  $P$  — value of the confidence interval;  $n$  — number of parallel determinations;  $A_x$  — optical density of the sample;  $A_{st}$  — optical density of the standard;  $M_{st}$  — the mass of the standard weight;  $X$  — amount of aminocaproic acid in the sample;  $X_{av}$  — average amount of aminocaproic acid in the samples;  $\Delta X$  — confidential interval;  $\varepsilon$  — a relative error of result of individual determination.

**Таблица 4.** Статистическая обработка результатов фотометрического определения иона железа в гемостатическом средстве ( $P = 95\%$ ;  $n = 6$ )**Table 4.** Statistical analysis of the results of iron ion photometric determination in hemostatic agent ( $P = 95\%$ ;  $n = 6$ )

Номер образца Number of sample	$A_x$	C (Fe), мг/мл C (Fe), mg/ml	$X$ , г/мл $X$ , g/ml	$X_{cp}$ , г/мл $X_{av}$ , g/ml	$\Delta X$	$\varepsilon$ , %	$X_{cp} \pm \Delta X$ $X_{av} \pm \Delta X$
1	0.885	0.0786	0.0491				
2	0.874	0.0770	0.0481				
3	0.878	0.0776	0.0485				
4	0.884	0.0785	0.0490	0.0487	0.0004	0.8321	0.0487 ± 0.0004
5	0.879	0.0778	0.0485				
6	0.883	0.0783	0.0489				

Пр и м е ч а н и е.  $P$  — величина доверительного интервала;  $n$  — число параллельных определений;  $A_x$  — оптическая плотность образца; C (Fe) — концентрация ионов железа, вычисленная с использованием градуировочного графика;  $X$  — концентрация ионов железа в образце;  $X_{cp}$  — среднее значение количественного содержания ионов железа в образцах;  $\Delta X$  — доверительный интервал;  $\varepsilon$  — относительная ошибка результата отдельного определения.

Note.  $P$  — value of the confidence interval;  $n$  — number of parallel determinations,  $A_x$  — optical density of the sample; C (Fe) — concentration of iron ions calculated using a calibration graph;  $X$  — concentration of iron ions in the sample;  $X_{av}$  — average value of the quantitative content of iron ions in the samples;  $\Delta X$  — confidential interval;  $\varepsilon$  — a relative error of result of individual definition.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А. Состояние фармацевтического рынка гемостатических лекарственных препаратов Российской Федерации // Вестн. Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия, биология, фармация. 2017. № 1. С. 138–142.
2. Белозерская Г.Г., Макаров В.А., Жидков Е.А. Гемостатические средства местного действия (обзор) // Химико-фармацевт. журн. 2006. Т. 40, № 7. С. 9–15.
3. Galanakis I., Vasdev N., Soomro N. A review of current hemostatic agents and tissue sealants used in laparoscopic partial nephrectomy // Rev. Urol. 2011. Vol. 13 (3). P. 131–138.

## REFERENCES

1. Barsukova Yu.N., Melnikova O.A. (2017). State of the pharmaceutical market of hemostatic drugs in the Russian Federation. *Proceedings of Voronezh State University; Series: Chemistry, Biology, Pharmacy*, 1, 138–142.
2. Belozerskaya G.G., Makarov V.A., Zhitkov E.A. (2006). Hemostatic agents of local action (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 40, 7, 9–15. In Russ.
3. Galanakis I., Vasdev N., Soomro N. (2011). A review of current hemostatic agents and tissue sealants used in laparoscopic partial nephrectomy. *Rev. Urol.*, 13 (3), 131–138.

4. Eaton J.W., Qian M. Molecular bases of cellular iron toxicity // *Free Radic. Biol. Med.* 2002. Vol. 32 (9). P. 833–840.
5. Raghunathan K., Connelly N.R., Kanter G.J.  $\epsilon$ -Aminocaproic acid and clinical value in cardiac anesthesia // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011. Vol. 25 (1). P. 16–19.
6. Демина Н.Б., Скатков С.А. Фармацевтическая нанотехнология: развитие технологических дисциплин в высшем фармацевтическом образовании // *Фармация*. 2009. № 2. С. 42–45.
7. Ellis-Behnke R.G., Teather L.A., Schneider G.E., So K.F. Using nanotechnology to design potential therapies for CNS regeneration // *Cur. Pharm. Des.* 2017. Vol. 13 (24). P. 2519–2528.
8. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А. Мягкая лекарственная форма с наночастицами для остановки кровотечения: обоснование состава и технология получения // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019. Т. 8, № 2. С. 48–54.
9. Тюкавкина Н.А., Берлянд А.С., Елизарова Т.Е. и др. Стандартизация и контроль качества лекарственных средств: учеб. пособие. М.: Мед. информ. агентство, 2014. 384 с.
10. Степанова Э.Ф., Корякова К.Н., Хартюнова Е.И., Майорова А.В. Выбор оптимальной композиции вспомогательных веществ дерматологических лекарственных форм с димебоном: биофармацевтические исследования *in vitro* // *Международ. журн. прикладных и фундамент. исследований*. 2010. № 5. С. 41–45.
11. Krówczyński L.S. Sprawy badań naukowych w dziedzinie technologii postaci leku (1972–1982) // *Farm. Pol.* 1984. Vol. 40 (1). P. 21–26.
12. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А., Мельников М.Ю. Разработка и валидация методики спектрофотометрического определения кислоты аминокaproновой в многокомпонентном гемостатическом средстве // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018. № 1. С. 76–83.
13. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А., Мельников М.Ю. Разработка и валидация методики фотометрического определения железа в гемостатическом средстве // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017. № 1. С. 86–91.
4. Eaton J.W., Qian M. (2002). Molecular bases of cellular iron toxicity. *Free Radic. Biol. Med.*, 32 (9), 833–840.
5. Raghunathan K., Connelly N.R., Kanter G.J. (2011).  $\epsilon$ -Aminocaproic acid and clinical value in cardiac anesthesia. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 25 (1), 16–19.
6. Demina N.B., Skatkov S.A. (2009). Pharmaceutical nanotechnology: development of technological disciplines in higher pharmaceutical education. *Pharmacy*, 2, 42–45. In Russ.
7. Ellis-Behnke R.G., Teather L.A., Schneider G.E., So K.F. (2017). Using nanotechnology to design potential therapies for CNS regeneration. *Cur. Pharm. Des.*, 13 (24), 2519–2528.
8. Barsukova Yu.N., Melnikova O.A. (2019). Soft drug dosage form with nanoparticles for control bleeding: justification of composition and technology of preparation. *Drug Development and Registration*, 8, 2, 48–54. In Russ.
9. Tyukavkina N.A., Berland A.S., Elizarova T.E. et al. (2014). *Standardization and Quality Control of Medicines*. Moscow, 384 p. In Russ.
10. Stepanova E.F., Koryakov K.N., Khartyunova E.I., Mayorova A.V. (2010). Selection of optimal composition of auxiliary substances of dermatological dosage forms with dimebone: biopharmaceutical research *in vitro*. *International Journal of Applied and Fundamental Researches*, 5, 41–45. In Russ.
11. Krówczyński L.S. (1984). Sprawy badań naukowych w dziedzinie technologii postaci leku (1972–1982). *Farm. Pol.*, 40 (1), 21–26.
12. Barsukova Yu.N., Melnikova O.A., Melnikov M.Yu. (2018). Development and validation of spectrophotometric techniques of determination of aminocaproic acid in a multicomponent hemostatic agent. *Drug Development and Registration*, 1, 76–83. In Russ.
13. Barsukova Yu.N., Melnikova O.A., Melnikov M.Y. (2017). Development and validation of photometric techniques of determination of iron in hemostatic agent. *Drug Development and Registration*, 1, 86–91. In Russ.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Барсукова Юлия Николаевна** — аспирант кафедры фармации и химии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Екатеринбург).

**Мельникова Ольга Александровна** — д-р фармацевтических наук, доцент кафедры фармации и химии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Екатеринбург).

**Образец цитирования:** Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А. Изучение высвобождения действующих веществ из гемостатического средства на гидрофильной основе // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020. № 1. С. 100–107.

## ABOUT THE AUTHORS

**Barsukova Yuliya Nikolayevna** — Post-Graduate student, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University (Yekaterinburg).

**Melnikova Olga Aleksandrovna** — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Assistant Professor, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University (Yekaterinburg).

**Citation example:** Barsukova Yu.N., Melnikova O.A. (2020). The study of the release of active substances from hemostatic agent on hydrophilic basis. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 100–107.

## Классификационные и диагностические аспекты патологии щитовидной железы на современном этапе (обзор литературы)

Пастернак И.А.<sup>1</sup>, Казачков Е.Л.<sup>1</sup>, Пастернак А.Е.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Челябинск)

<sup>2</sup>ГБУЗ «Челябинское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» Минздрава Челябинской области (Челябинск)

## Classification and diagnostic aspects of thyroid pathology at the present stage (literature review)

Pasternak I.A.<sup>1</sup>, Kazachkov E.L.<sup>1</sup>, Pasternak A.E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

<sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Office of Forensic Medical Examination (Chelyabinsk)

### АННОТАЦИЯ

Развитие современной тиреологии предполагает появление новых терминов, диагностических критериев, классификаций и клинических рекомендаций по лечению заболеваний щитовидной железы. В настоящем обзоре рассмотрены новые классификации опухолей и узловых образований щитовидной железы, представлена их частота и особенности диагностики в детском возрасте.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, классификации заболеваний щитовидной железы, тиреоидная патология.

### ABSTRACT

The development of modern thyroidology involves the emergence of new terms, diagnostic criteria, classifications, and clinical guidelines for the treatment of thyroid diseases. This review considers classifications of tumors and nodules of the thyroid gland and presents their frequency and diagnostic characteristics in childhood.

**Keywords:** thyroid gland, classification of thyroid diseases, thyroid pathology.

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на определённые успехи современной тиреологии, в отечественной литературе продолжает обсуждаться широкий круг вопросов: терминология, критерии диагностики и классификации болезней щитовидной железы (ЩЖ) [1–4]. При этом включение заболеваний ЩЖ в МКБ-10 в один класс с расстройствами питания и нарушениями обмена скрывает истинную частоту тиреоидной патологии [5, 6]. В Российской Федерации принята клиническая классификация И.И. Дедова, построенная на оценке функциональной активности ЩЖ. Однако иной

### INTRODUCTION

Despite advances in modern thyroidology, Russian researchers continue discussing a wide range of issues: terminology, criteria for the diagnosis and classification of the thyroid gland (TG) diseases [1–4]. Moreover, the inclusion of TG diseases in ICD-10 in one class with nutritional and metabolic disorders hides the exact frequency of thyroid pathology [5, 6]. In the Russian Federation, there is the clinical classification of I.I. Dedov based on the assessment of the functional activity of TG. However, there is no other generally accepted international classification of TG pathology [7].

Поступила 11.11.2019  
Принята 17.12.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Пастернак Илона Анатольевна: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.  
E-mail: pasternak.ilona@mail.ru

Received 11.11.2019  
Accepted 17.12.2019

\*Corresponding author  
Pasternak Ilona Anatolyevna: South Ural State Medical University, 64, Vorkovskogo Str., Chelyabinsk, 454092, Russia.  
E-mail: pasternak.ilona@mail.ru

общепринятой международной классификации патологии ЩЖ нет [7].

Актуальность пересмотра классификационных и диагностических подходов к заболеваниям ЩЖ диктуется необходимостью учета современных научных и практических данных для достижения консенсуса в трактовках между врачами разных специальностей. Так, отсутствует единый подход к термину «узловой зоб» [1, 4, 5, 8–10]. В МКБ-10 узловой зоб представлен в IV классе в рубриках: «нетоксический одноузловой зоб» (E04.1) и «тиреотоксикоз с токсическим одноузловым зобом» (E05.1), «тиреотоксикоз с токсическим многоузловым зобом» (E05.2) [6]. Согласно патолого-анатомическим критериям, «узловой зоб» — патологическое увеличение ЩЖ, связанное с очаговой (узловой) гиперплазией и/или гипертрофией ее паренхимы, которое следует отличать от очаговых зобных изменений без инкапсуляции [1, 4, 5]. С позиций клинической медицины в понятие «узловой зоб» отнесены все узловые образования органа (включая новообразования), в том числе необязательно ведущие к увеличению его объема [3–5, 8–10]. Поэтому для цитологической оценки результатов тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии узловых образований ЩЖ в США была разработана классификация The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC) с 6 категориями цитологического заключения [11]. С 2015 г. TBSRTC рекомендована к применению на территории Российской Федерации [12]. Вместе с тем показано, что в 15 % случаев результаты тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии недостоверны [3]. Кроме того, цитологическое заключение с указанием IV–V категорий по TBSRTC (фолликулярная неоплазия/подозрение на нее и на злокачественное новообразование) позволяет только решить вопрос о необходимости хирургического лечения и не устанавливает нозологическую единицу [13]. Поэтому верификация патологии ЩЖ остается приоритетом патолого-анатомического исследования, а диагностику тиреоидных опухолей относят к одному из наиболее сложных разделов патоморфологии [1, 14].

В последний пересмотр гистологической классификации опухолей ЩЖ (ВОЗ, 2017) [15] введена новая группа — инкапсулированные опухоли фолликулярного строения. Она представлена ранее обсуждаемыми, но не внесенными в предыдущее издание категориями: фолликулярная опухоль неопределенного злокачественного потенциала (FT-UMP) (ее диагности-

The relevance of the revision of classification and diagnostic approaches to TG diseases is dictated by the need to take into account current scientific and practical data in order to achieve consensus in the interpretations between doctors of different specialities. Thus, there is no consistent approach to the term “nodular goitre” [1, 4, 5, 8–10]. In ICD-10, nodular goitre is presented in class IV under the heading Nontoxic single thyroid nodule (E04.1), then in class V under Thyrotoxicosis with toxic single thyroid nodule (E05.1) and Thyrotoxicosis with toxic multinodular goitre (E05.2) [6]. According to pathological and anatomical criteria, “nodular goitre” is a pathological increase in TG associated with focal (nodal) hyperplasia and/or hypertrophy of its parenchyma, which should be distinguished from focal goitre changes without encapsulation [1, 4, 5]. From the standpoint of clinical medicine, the concept of “nodular goitre” comprises all nodular formations of an organ (including neoplasms), likewise those that do not necessarily lead to an increase in its volume [3–5, 8–10]. Therefore, to evaluate the results of a fine-needle aspiration biopsy of TG nodules, the classification The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology (TBSRTC) with six categories of cytological conclusion was developed in the USA [11]. Since 2015, TBSRTC has been recommended for use in the Russian Federation [12]. However, in 15% of cases, the results of a fine-needle aspiration biopsy are unreliable [3]. Besides, the cytological conclusion indicating the IV–V categories according to TBSRTC (follicular neoplasia/suspicion of it and malignant neoplasm) allows only to solve the question of the need for surgical treatment and does not establish a nosological entity [13]. Therefore, verification of the TG pathology remains the priority of pathological and anatomical examination, and the diagnosis of thyroid tumors is ranked among the most challenging issues of pathomorphology [1, 14].

The latest revision of the histological classification of TG tumors (WHO, 2017) [15] included a new group — encapsulated follicular tumors. It is represented by categories discussed earlier, but not included in the previous edition: follicular tumor of undetermined malignant potential (FT-UMP) (its diagnostic criteria: doubtful signs of vascular and capsular invasion; lack of nuclear changes characteristic of papillary carcinoma) and well-differentiated tumor of uncertain malignant potential (WDT-UMP) (its diagnostic criteria: doubtful signs of both vascular/capsular invasion

ческие критерии: сомнительные признаки сосудистой и капсулярной инвазии; отсутствие изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы) и высокодифференцированная опухоль неопределенного злокачественного потенциала (WDT-UMP) (ее диагностические критерии: сомнительные признаки как сосудистой/капсулярной инвазии, так и изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы) [15, 16]. В этой группе инкапсулированных опухолей также выделена новая форма — «неинвазивная фолликулярная опухоль с ядрами папиллярного типа» (NIFTP), которую ранее относили к неинвазивному фолликулярному варианту папиллярной карциномы. Частота NIFTP на современном этапе составляет 16–23 % от всех случаев папиллярных карцином [17, 18]. Для ее диагностики обязательны не менее 2 из 3 «ядерных» признаков папиллярной карциномы: изменение формы и размера ядер, контуров ядерной мембраны, характеристик ядерного хроматина. NIFTP характеризуется фолликулярным строением с наличием капсулы/четкой границы и отсутствием инвазии, псаммомных телец [15–17]. Пересмотр гистологических образцов, молекулярно-генетическое типирование NIFTP и многолетнее наблюдение за пациентами показали, что у этой опухоли — безрецидивный клинический прогноз, что делает агрессивную хирургическую тактику излишней [17]. В классификацию опухолей [15] внесена новая гистологическая форма фолликулярной карциномы — инкапсулированный вариант с сосудистой инвазией, при этом уточняется, что инвазия регистрируется в сосудах капсулы и/или перитуморозной ткани. В отдельную группу выделены онкоцитарные опухоли (аденома и карцинома из клеток Гюртля), которые ранее относили в категорию фолликулярно-клеточных неоплазий. Гиалинизирующая трабекулярная опухоль переведена из группы доброкачественных в пограничные опухоли с неопределенным злокачественным потенциалом. Из нового издания классификации ВОЗ исключена категория «атипическая аденома», которая вызывала значительные трудности в диагностике из-за неопределенности ее критериев [1].

В предыдущих TNM-классификациях и в последнем издании клинических рекомендаций онкологов Российской Федерации, помимо общепринятых градаций (категории T, N, M), применялась дополнительная возрастная группировка по стадиям для папиллярного и фолликулярного рака ЩЖ [19]. Так, при наличии отдаленных метастазов у пациентов младше 45 лет уста-

and nuclear changes characteristic of papillary carcinoma) [15, 16]. In this group of encapsulated tumors a new form was identified — “noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features” (NIFTP), which was previously referred to as a non-invasive follicular variant of papillary carcinoma. At the present time, the frequency of NIFTP is 16–23% of all cases of papillary carcinomas [17, 18]. Diagnosis requires at least 2 out of 3 “nuclear” signs of papillary carcinoma: changes in the shape and size of nuclei, the contours of the nuclear membrane, and the characteristics of nuclear chromatin. NIFTP is characterised by a follicular structure with the presence of a capsule/clear border and the absence of invasion, psammoma bodies [15–17]. Re-review of histological samples, molecular genetic typing of NIFTP and long-term follow-up of patients showed that this tumor has a relapse-free clinical prognosis, which makes aggressive surgical tactics unnecessary [17]. A new histological form of follicular carcinoma, an encapsulated variant with vascular invasion, has been added to the classification of tumors [15], and invasion is specified to be recorded in the vessels of the capsule and/or peritumoral tissue. Oncocytic tumors (Hürthle cell adenoma and carcinoma), which oncologists previously classified as follicular-cell neoplasms, were singled out as a separate group. The hyalinizing trabecular tumor has been transferred from the group of benign to borderline tumors with undetermined malignant potential. The category “atypical adenoma” was excluded from the new edition of the WHO classification, which caused significant difficulties in diagnosis due to the uncertainty of its criteria [1].

In previous TNM classifications and in the latest edition of the clinical guidelines of the Russian Federation’s oncologists, apart from the generally accepted grades (T, N, M), an additional age grouping according to the stages was used for papillary and follicular cancer of TG [19]. Thus, in the presence of distant metastases in patients younger than 45 years, grade II was established, after 45 years — grade IV. This is due to the fact that differentiated follicular cell carcinoma in childhood has a more favorable prognosis in contrast to the adult population [20]. According to experts of the American Association of Endocrinologists, age-related staging of follicular cell carcinoma is controversial since it is based on studies in small groups of children and the following up of such patients

навливалась II стадия, после 45 лет — IV стадия. Это объясняется тем, что дифференцированная фолликулярно-клеточная карцинома в детском возрасте имеет более благоприятный прогноз в отличие от взрослого населения [20]. По мнению экспертов Американской ассоциации эндокринологов, возрастное стадирование фолликулярно-клеточной карциномы спорно, поскольку оно основано на исследованиях в небольших группах детей и наблюдение за такими пациентами ограничивалось детским возрастом, поэтому рекомендована стратификация детей по группам риска [9]. Также отмечается, что у детей по сравнению со взрослыми на момент манифестации тиреоидные карциномы чаще имеют большие размеры (категория T), а возраст детей младше 10 лет рассматривается как фактор повышенного риска рецидива и летальности [14, 21, 22]. Следует отметить, что в последнем издании классификации TNM возрастная группировка по стадиям для дифференцированной карциномы ЩЖ исключена [23].

В клинической эндокринологии сегодня появился новый термин — «функциональная автономия щитовидной железы» [24, 25]. Функциональная автономия определяется как избыточное функционирование тиреоцитов без участия их главного физиологического стимулятора — тиреотропного гормона гипофиза [8, 24–26]. Пусковой фактор (дефицит йода) приводит к гиперплазии тиреоцитов и далее к их соматическим мутациям. Таким образом, появляется пул клеток с усиленным пролиферативным потенциалом и синтезом тиреоидных гормонов, что сопровождается гипертиреозом (тиреотоксикозом) (рисунок) [25–27].

Функциональная автономия развивается в течение длительного времени только у жителей йоддефицитных регионов и проявляется клинически преимущественно в пожилом возрасте [24–28, 29]. Частота выявления таких функционально автономных («горячих») узлов значительно повышается при многоузловом зобе [25, 28]. Существующие клинико-лабораторные критерии диагностики функциональной автономии позволяют провести дифференциальный диагноз с узловым токсическим зобом и тем самым определить тактику лечения [3, 8, 29]. В патологоанатомическом руководстве функциональная автономия щитовидной железы упомянута лишь в качестве причины тиреотоксикоза с токсическим одноузловым / многоузловым зобом [4]. В этой связи актуальным становится вопрос о патоморфологических признаках функциональной авто-

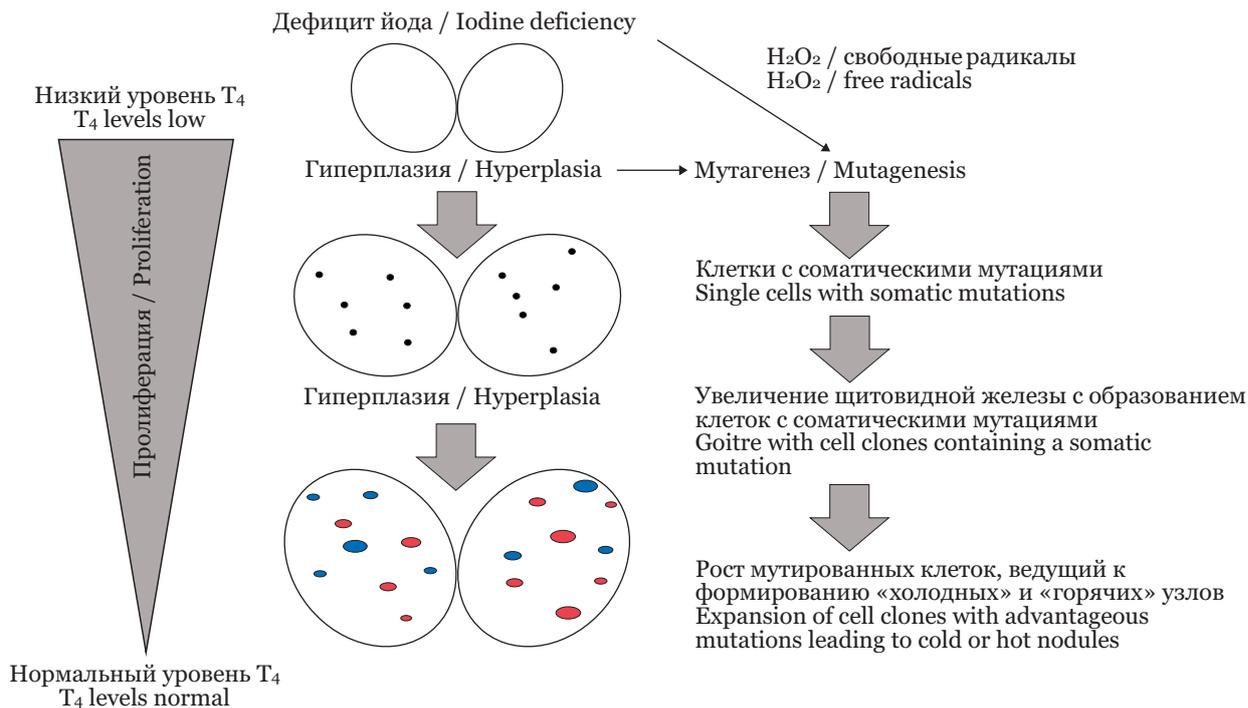
was limited to childhood; therefore stratification of children by risk groups is recommended [9]. It is also noted that at the time of manifestation in children as compared to adults, thyroid carcinomas are often larger (category T), and children under 10 years of age are at increased risk of relapse and mortality [14, 21, 22]. It should be noted that in the latest edition of the TNM classification, age grouping by grades for differentiated TG carcinoma is excluded [23].

In clinical endocrinology, a new term has appeared today — “functional autonomy of the thyroid gland” [24, 25]. Functional autonomy is the excessive activity of thyroid cells without participation of their primary physiological stimulant — thyroid-stimulating hormone of the pituitary gland [8, 24–26]. The trigger factor (iodine deficiency) leads to thyroid hyperplasia and further to their somatic mutations. Thus, a pool of cells with enhanced proliferative potential and the synthesis of thyroid hormones appears, which is accompanied by hyperthyroidism (thyrotoxicosis) (the Figure) [25–27].

Functional autonomy develops over a long period of time only in residents of iodine-deficient regions and manifests itself clinically mainly in old age [24–28, 29]. The frequency of detection of such functionally autonomous (“hot”) nodes increases significantly in multinodular goitre [25, 28]. Existing clinical and laboratory criteria for the diagnosis of functional autonomy make it possible to make a differential diagnosis with toxic nodular goitre and thereby determine treatment strategies [3, 8, 29]. In the manual of pathological anatomy, functional autonomy of the thyroid gland is mentioned only as a cause of thyrotoxicosis with toxic single-node/multi-node goitre [4]. In this regard, the question of pathomorphological signs of functional autonomy becomes relevant, and whether structural criteria of thyrotoxicosis can be considered as such. At the same time, there is no consensus among morphologists about the morphological signs characteristic of thyrotoxicosis [1, 4, 30].

## CONCLUSION

According to several researchers [31, 32], today there is a gap between the accumulated clinical, experimental data on thyroid pathology and their integration into modern conceptions about the pathogenesis and morphogenesis of nodular and autoimmune thyroid diseases, which requires further study of these cornerstones of thyroidology



Этиопатогенез функциональной автономии щитовидной железы. Гиперплазия клеток с соматическими мутациями и формированием «холодных» (синий цвет) и гиперфункционирующих «горячих» (красный цвет) узлов в щитовидной железе (по К. Krohn, R. Paschke [27])

Etiopathogenesis of functional autonomy of the thyroid gland. Cell hyperplasia with somatic mutations and the formation of “cold” (blue) and hyperfunctioning “hot” (red) nodes in the thyroid (by K. Krohn, R. Paschke [27])

номии и могут ли таковыми считаться структурные критерии тиреотоксикоза (базедофикации). При этом единого мнения среди морфологов о характерных для тиреотоксикоза морфологических особенностях сегодня нет [1, 4, 30].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По мнению ряда авторов [31, 32], на сегодняшний день существует пробел между накопленными клиническими, экспериментальными данными о тиреоидной патологии и интеграцией их в современные представления о пато- и морфогенезе узловых и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, что требует дальней-

based on mandatory clinical and anatomical comparisons.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

шего изучения этих краугольных вопросов тиреоидологии на основе обязательного проведения клинико-анатомических сопоставлений.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. СПб.: СОТИС, 2002. 288 с.
2. Воробьев С.Л. Размышления патолога о цитологической диагностике неоплазий щитовидной железы // Арх. патологии. 2011. Т. 73, № 2. С. 57–61.
3. Петунина Н.А., Трухина Л.В. Болезни щитовидной железы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 216 с.
4. Зайратьянц О.В. Болезни эндокринной системы, расстройства питания // М.А. Пальцев, Л.В. Кактурский, О.В. Зайратьянц. Патологическая ана-

## REFERENCES

1. Khmelnsky O.K. (2002). *Cytological and Histological Diagnostics of Thyroid Gland Diseases*. St. Petersburg: SOTIS, 288 p. In Russ.
2. Vorobyev S.L. (2011). A pathologist's thoughts on the cytological diagnosis of thyroid neoplasias. *Archive of Pathology*, 73 (2), 57–61.
3. Petunina N.A., Trukhina L.V. (2011). *Thyroid Disease*. Moscow: GEOTAR-Media, 216 p. In Russ.
4. Zairatyants O.V. (2011). Diseases of the endocrine system, nutritional disorders. In M.A. Finger, L.V. Kaktursky, O.V. Zairatyants (Eds.). *Pathological Anatomy: National Guideline* (pp. 784–905). Moscow: GEOTAR-Media. In Russ.

- томия: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С. 784–905.
5. Лушников Е.Ф. О классификации патологии щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. 2001. Т. 48, № 4. С. 3–5.
  6. МКБ-10 — международная классификация болезней 10-пересмотра, Женева, 1995. URL: <https://mkb-10.com>. Дата обращения: 04.12.2019.
  7. Эндокринология: нац. руководство / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
  8. Трошина Е.А., Свириденко Н.Ю., Ванушко В.Э. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению тиреотоксикоза с диффузным зобом (диффузный токсический зоб, болезнь Грейвса, Базедова), узловым/многоузловым зобом, 2014. URL: [https://www.volgmed.ru/uploads/files/2014-11/33894-federal-nye\\_klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_diagnostike\\_i\\_lecheniyu\\_tireotoksikoza\\_s\\_diffuznym\\_zobom\\_diffuznyj\\_toksicheskiy\\_zob\\_bolezn\\_grejvsa-bazedova\\_uzlovym\\_mnogouzlovym\\_zobom\\_2014\\_http\\_www\\_endocrincen.pdf](https://www.volgmed.ru/uploads/files/2014-11/33894-federal-nye_klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_i_lecheniyu_tireotoksikoza_s_diffuznym_zobom_diffuznyj_toksicheskiy_zob_bolezn_grejvsa-bazedova_uzlovym_mnogouzlovym_zobom_2014_http_www_endocrincen.pdf). Дата обращения: 12.12.2019.
  9. Haugen B.K., Alexander E.K., Bible K.C. et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer // *Thyroid*. 2016. Vol. 26 (1). P. 1–133.
  10. Tamhane S., Gharib N. Thyroid nodule update on diagnosis and management // *Clin. Diabetes Endocrinol.* 2016. Vol. 2: 17.
  11. Cibas E.S., Ali S.Z. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology // *Am. J. Clin. Pathol.* 2009. Vol. 132 (5). P. 658–665. doi: 10.1309/AJCPHLMWMI3JV-4LA.
  12. Бельцевич Д.Г., Ванушко В.Э., Мельниченко Г.А. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению дифференцированного рака щитовидной железы у взрослых. Проект. Редакция 2016 г. // *Эндокринная хирургия*. 2015. Т. 9, № 3. С. 7–14.
  13. Нечаева О.А., Бавыкина Л.Г., Глазков А.А., Бритвин Т.А. Опыт применения системы Bethesda в оценке результатов тонкоигльной аспирационной биопсии узловых образований щитовидной железы // *РМЖ*. 2018. Т. 26, № 1-1. С. 23–27.
  14. Verburg F.A., Van Santen N.M., Luster M. Pediatric papillary thyroid cancer: current management challenges // *Onco Targets Ther.* 2017. Vol. 10. P. 165–175. doi: 10.2147/OTT.S100512.
  15. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs / eds. by R.V. Lloyd, R.Y. Osamura, G. Klöppel, J. Rosai. Lyon: IARC, 2017. P. 65–124.
  16. Абросимов А.Ю. Новая международная гистологическая классификация опухолей щитовидной железы // *Арх. патологии*. 2018. Т. 80, №1. С. 37–45.
  17. Nikiforov Y.E., Seethala R.R., Tallini G. et al. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma // *JAMA Oncol.* 2016. Vol. 2 (8). P. 1023–1029.
  18. Jug R., Jiang X. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: an evidence-based nomenclature change. *Pathology Res. Int.*, 1057252, 6 p. doi: 10.1155/2017/1057252.
  5. Lushnikov Ye.F. (2001). On classification of thyroid diseases. *Problems of Endocrinology*, 48 (4), 3–5. In Russ.
  6. ICD-10 — *International Classification of Diseases of the 10<sup>th</sup> revision*, Geneva. (1995). Retrieved on December 4, 2019 from <https://mkb-10.com>.
  7. Dedov I.I., Melchenko G.A. (Eds.) (2012). *Endocrinology: a National Guideline*. Moscow: GEOTAR-Media. In Russ.
  8. Troshina E.A., Sviridenko N.Yu., Vanushko V.E. et al. (2014). *Federal Clinical Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Thyrotoxicosis with Diffuse Goitre (Diffuse Toxic Goitre, Basedow's Disease), Nodular/Multinodular Goitre*. Retrieved on December 12, 2019 from [https://www.volgmed.ru/uploads/files/2014-11/33894-federalnye\\_klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_diagnostike\\_i\\_lecheniyu\\_tireotoksikoza\\_s\\_diffuznym\\_zobom\\_diffuznyj\\_toksicheskiy\\_zob\\_bolezn\\_grejvsa-bazedova\\_uzlovym\\_mnogouzlovym\\_zobom\\_2014\\_http\\_www\\_endocrincen.pdf](https://www.volgmed.ru/uploads/files/2014-11/33894-federalnye_klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_i_lecheniyu_tireotoksikoza_s_diffuznym_zobom_diffuznyj_toksicheskiy_zob_bolezn_grejvsa-bazedova_uzlovym_mnogouzlovym_zobom_2014_http_www_endocrincen.pdf).
  9. Haugen B.K., Alexander E.K., Bible K.C. (2016). 2015 American Thyroid Association guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 26 (1), 1–133.
  10. Tamhane S., Gharib N. (2016). Thyroid nodule update on diagnosis and management. *Clin. Diabetes and Endocrinol.*, 2, 17. doi: 10.1186/s40842-016-0035-7.
  11. Cibas E.S., Ali S.Z. (2009). The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Am. J. Clin. Pathol.*, 132 (5), 658–665. doi: 10.1309/AJCPHLMWMI3JV-4LA.
  12. Beltsevich D.G., Vanushko V.E., Melnichenko G.A. (2015). Russian clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of differentiated thyroid cancer in adults. Project. 2016 Revision. *Endocrine Surgery*, 9, (3), 7–14. In Russ.
  13. Nechaeva O.A., Bavykina L.G., Glazkov A.A., Britvin T.A. (2018). Experience with the new Bethesda system for reporting thyroid cytopathology in evaluating the results of fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules. *Russian Medical Journal*, 26, (1–1), 23–27. In Russ.
  14. Verburg F.A., Van Santen N.M., Luster M. (2017). Pediatric papillary thyroid cancer: current management challenges. *Onco Targets Ther.*, 10, 165–175. doi: 10.2147/OTT.S100512.
  15. Lloyd R.V., Osamura R.Y., Klöppel G., Rosai J. (2017). *WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs*. Lyon: IARC, pp. 65–124.
  16. Abrosimov A.Yu. (2018). The new international histological classification of thyroid tumours. *Archive of Pathology*, 80 (1), 37–45.
  17. Nikiforov Y.E., Seethala R.R., Tallini G. (2016). Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *JAMA Oncol.*, 2 (8), 1023–1029.
  18. Jug R., Jiang H. (2017). Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: an evidence-based nomenclature change. *Pathology Res. Int.*, 1057252, 6 p. doi: 10.1155/2017/1057252.

- dence-based nomenclature change // *Patology Res. Int.* 2017. Vol. 2017: 1057252, 6 p. doi: 10.1155/2017/1057252.
19. Болотина Л.В., Владимировна Л.Ю., Деньгина Н.В., Новик А.В., Романов И.С. Практические рекомендации по лечению злокачественных опухолей головы и шеи // *Злокачественные опухоли.* 2017. Т. 7, № 3–S2. С. 66–76.
  20. Pan J.J., Zhao L., Cheng R., Yang Y., Hu Y.H. Thyroid carcinoma in children and adolescents: Clinical characteristics and follow-up from two centers // *J. Canc. Res. Ther.* 2017. Vol. 13 (4). P. 715–719.
  21. Rivkees S.A., Bauer A.J. Thyroid disorders: manifestations, evaluation, and management in children and adolescents // *Contemp. Ped.* 2019. URL: <https://www.contemporarypediatrics.com/endocrinology/thyroid-disorders-manifestations-evaluation-and-management-children-and-adolescents>. Дата обращения: 05.12.2019.
  22. Francis G.L., Waguespack S.G., Bauer A.J. et al. Management guidelines for children with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer // *Thyroid.* 2015. Vol. 25 (7). doi: 10.1089/thy.2014.0460.
  23. TNM Атлас: Иллюстр. рук-во по TNM классификации злокачественных новообразований / пер. с англ. Ч. Виттекинд, Х. Асамура, Л.Х. Собин. М: Изд-во Панфилова, 2017. С. 65–69.
  24. Miller M.J., Block M.A. Functional autonomy in multinodular goiter // *JAMA.* 1970. Vol. 214 (3). P. 535–539.
  25. Dremier S., Coppee F., Delange F. et al. Thyroid autonomy: mechanism and clinical effects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996. Vol. 81 (12). P. 4187–4193.
  26. Bauch K. Epidemiology of functional autonomy // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1998. Vol. 106 (4). P. 16–22.
  27. Krohn K., Paschke R. Progress in understanding the etiology of thyroid autonomy // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2001. Vol. 86 (7). P. 3336–3345. doi: 10.1210/jcem.86.7.7642.
  28. Medeiros-Neto G. Multinodular goiter. Endotext [Internet]. 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285569/>. Дата обращения: 05.12.2019.
  29. Свириденко Н.Ю. Функциональная автономия щитовидной железы // *Врач.* 2002. № 4. С. 21–23.
  30. Livolsi V.A., Baloch Z.W. The pathology of hyperthyroidism // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2018. Vol. 9: 737. doi: 10.3389/fendo.2018.00737.
  31. Biczysko M., Stajgis P., Zeromski J. Lymphocytes in the structure of non-neoplastic goitre // *Pol. J. Pathol.* 2002. Vol. 53 (2). P. 73–81.
  32. Здор В.В., Маркелова Е.В., Гельцер Б.И. Новые участники нарушения толерантности к антигенам щитовидной железы: к концепции иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (обзор литературы) // *Мед. иммунология.* 2016. Т. 18, № 3. С. 209–220.
  19. Bolotina L.V., Vladimirova L.Yu., Dengina N.V., Novik A.V., Romanov I.S. (2017). Practical recommendations for the treatment of malignant tumours of the head and neck. *Malignant Tumoursis*, 7, (3–S2), 66–76. In Russ.
  20. Pan J.J., Zhao L., Cheng R., Yang Y., Hu Y.H. (2017). Thyroid carcinoma in children and adolescents: Clinical characteristics and follow-up from two centres. *J. Canc. Res. Ther.*, 13 (4), 715–719.
  21. Rivkees S.A., Bauer A.J. (2019). Thyroid disorders: manifestations, evaluation, and management in children and adolescents. *Contemp. Ped.* Retrieved December 5, 2019 from <https://www.contemporarypediatrics.com/endocrinology/thyroid-disorders-manifestations-evaluation-and-management-children-and-adolescents>.
  22. Francis G.L., Waguespack S.G., Bauer A.J. et al. (2015). Management guidelines for children with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 25 (7). doi: 10.1089 / thy.2014.0460.
  23. Wittekind Ch., Asamura H., Sobin L.H. (2017). *TNM Atlas. Illustrated Guide to TNM Classification of Malignant Tumours.* (Trans). Moscow: Publishing house of Panfilov, pp. 65–69.
  24. Miller M.J., Block M.A. (1970). Functional autonomy in multinodular goitre. *JAMA*, 214 (3), 535–539.
  25. Dremier S., Coppee F., Delange F. et al. (1996). Thyroid autonomy: mechanism and clinical effects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81 (12), 4187–4193.
  26. Bauch K. (1998). Epidemiology of functional autonomy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106 (4), 16–22.
  27. Krohn K., Paschke R. (2001). Progress in understanding the aetiology of thyroid autonomy. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 86 (7), 3336–3345. doi: 10.1210 / jcem.86.7.7642.
  28. Medeiros-Neto G. (2016). *Multinodular Goitre.* Endotext [Internet]. Retrieved December 5, 2019 from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285569/>.
  29. Sviridenko N. Yu. (2002). Functional autonomy of the thyroid gland. *Doctor*, 4, 21–23. In Russ.
  30. Livolsi V.A., Baloch Z.W. The pathology of hyperthyroidism. (2018). *Front. Endocrinol.*, 9, 737. doi: 10.3389 / fendo.2018.00737.
  31. Biczysko M., Stajgis P., Zeromski J. (2002). Lymphocytes in the structure of non-neoplastic goitre. *Pol. J. Pathol.*, 53 (2), 73–81.
  32. Zdor V.V., Markelova E.V., Geltser B.I. (2016). New participants in the disturbance of tolerance to thyroid antigens: to the concept of the immunopathogenesis of autoimmune thyroid diseases (literature review). *Med. Immunology*, 18 (3), 209–220. In Russ.

## ABOUT THE AUTHORS

**Pasternak Iona Anatolyevna** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University (Chelyabinsk).

**Kazachkov Evgeny Leonidovich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University (Chelyabinsk).

**Pasternak Aleksey Evgenyevich** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anat-

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Пастернак Илона Анатольевна** — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Челябинск).

**Казачков Евгений Леонидович** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Челябинск).

**Пастернак Алексей Евгеньевич** — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (Челябинск); начальник ГБУЗ «Челябинское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Челябинской области.

**Образец цитирования:** Пастернак И.А., Казачков Е.Л., Пастернак А.Е. Классификационные и диагностические аспекты патологии щитовидной железы на современном этапе (обзор литературы) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 108–115.

omy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University (Chelyabinsk); Head, Chelyabinsk Regional Office of Forensic Medical Examination (Chelyabinsk).

**Citation example:** Pasternak I.A., Kazachkov E.L., Pasternak A.E. (2020). Classification and diagnostic aspects of thyroid pathology at the present stage (literature review). *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 108–115.



## Нутритивный статус и методы его оценки у больных на гемодиализе (обзор литературы)

Королева И.Е.<sup>1</sup>, Абрамова Е.Э.<sup>2</sup>, Тов Н.Л.<sup>2</sup>, Мовчан Е.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница»

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

## Nutritional status and methods of its evaluation in patients on hemodialysis (literature review)

Koroleva I.E.<sup>1</sup>, Abramova E.E.<sup>2</sup>, Tov N.L.<sup>2</sup>, Movchan E.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk Regional Clinical Hospital

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University

### АННОТАЦИЯ

В последние годы количество больных с терминальной хронической почечной недостаточностью ежегодно увеличивается на 7 %, что в пять раз превышает темпы роста населения мира. Несмотря на использование методов заместительной почечной терапии, способствующих увеличению продолжительности жизни у этой категории больных, летальность остается стабильно высокой. В ряде исследований показано, что в отличие от общей популяции у больных, получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом, более низкая летальность отмечается среди пациентов с большей массой тела, а низкие значения индекса массы тела (ИМТ) прогностически неблагоприятны. Этот феномен получил название обратной эпидемиологии или «парадокс ожирения». Многочисленные исследования продемонстрировали высокую распространенность нарушений нутритивного статуса у больных на гемодиализе, которые в значительной степени определяют их заболеваемость и летальность. Пациенты на программном гемодиализе имеют более низкий ИМТ по сравнению с лицами того же возраста и пола из общей популяции. Пациенты, получающие лечение программным гемодиализом, являются группой риска по развитию белково-энергетической недостаточности, а продолжительность заместительной почечной терапии способствует ухудшению нутритивного статуса. Все это свидетельствует о важной роли вопросов питания и необходимости выбора оптимального метода для оценки нутритивного статуса у этой категории больных. В настоящее время нет однозначного мнения о наиболее оптимальном методе определения избыточной массы тела и ожирения, а также о том, является ли абдоминальное ожирение фактором риска заболеваемости и смертности у пациентов, находящихся на программном гемодиализе.

**Ключевые слова:** гемодиализ, нутритивный статус, антропометрические показатели, биоимпедансометрия, компьютерная томография, висцеральная жировая ткань, подкожная жировая ткань.

### ABSTRACT

In recent years, the number of patients with terminal kidney failure has been increasing by 7% annually, which exceeds the growth rate of the world population five times. Despite the use of methods of renal replacement therapy, which contributes to an increase in life expectancy, the lethality remains persistently high. A number of studies has shown that, in contrast to the general population, in patients receiving renal replacement therapy with program hemodialysis a lower lethality rate is among patients with higher body weight, whereas low body mass index (BMI) values are prognostically unfavourable. This phenomenon has been called “reverse epidemiology” or “obesity paradox”. Numerous studies have demonstrated a high prevalence of nutritional status disorders in patients on hemodialysis, which largely determine their morbidity and lethality. Patients on program hemodialysis have lower BMI compared to individuals of the same age and sex in the general population. Patients on program hemodialysis are at risk of protein-energy insufficiency development, and the duration of replacement renal therapy contributes to the deterioration of

Поступила 30.05.2019  
Принята 29.09.2019

\*Автор, ответственный за переписку  
Королева Инна Евгеньевна: ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница». 630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130.  
E-mail: medvegonok.inna@mail.ru

Received 30.05.2019  
Accepted 29.09.2019

\*Corresponding author  
Koroleva Inna Evgenyevna: Novosibirsk Regional Clinical Hospital, 130, Nemirovicha-Danchenko Str., Novosibirsk, 630087, Russia.  
E-mail: medvegonok.inna@mail.ru

nutritional status. This shows the key role of nutrition and the need to choose the optimal method for nutritional status assessment in this category of patients. Currently, there is no unanimous opinion on the most suitable method for determining overweight and obesity, and whether abdominal obesity is a risk factor for morbidity and mortality in patients undergoing program hemodialysis.

**Keywords:** hemodialysis, nutritional status, anthropometric parameters, bioelectrical impedance analysis, computed tomography, visceral adipose tissue, subcutaneous adipose tissue.

В последние годы количество больных с терминальной хронической почечной недостаточностью неуклонно возрастает как во всем мире, так и в Российской Федерации. Несмотря на использование методов заместительной почечной терапии, способствующих увеличению продолжительности жизни у этой категории больных, смертность остается стабильно высокой. Состояние нутритивного статуса у больных на программном гемодиализе имеет важное прогностическое значение и оказывает значительное влияние на заболеваемость и летальность. Результаты ряда исследований продемонстрировали, что пациенты на программном гемодиализе имеют более низкий ИМТ по сравнению с лицами из общей популяции, соответствующими по возрасту и полу. По данным различных исследователей недостаточность питания встречается у этой категории пациентов в 10–70 % случаев [1, 2]. Немаловажную роль в развитии недостаточности питания играют социальные и экономические факторы: слабая социальная поддержка, одиночество, низкая самооценка физического и эмоционального состояния и угасание когнитивной деятельности [3, 4]. Кроме того, уремическая интоксикация приводит к снижению аппетита, желудочно-кишечным расстройствам (тошнота, рвота), анорексии, что наиболее выражено у пожилых пациентов [5].

В ряде исследований у больных, получающих заместительную почечную терапию, продемонстрирован феномен обратной эпидемиологии или «парадокс ожирения»: более низкая летальность у пациентов с большей массой тела и неблагоприятный прогноз у пациентов с низкими значениями индекса массы тела (ИМТ) [6–8]. Даже при значении ИМТ более 39 у больных на гемодиализе продолжительность жизни увеличивается [9]. Результаты исследований свидетельствуют о том, что увеличению выживаемости способствуют как большая мышечная масса, так и более высокий уровень жира в организме. Худшую выживаемость на программном гемодиализе имеют пациенты с низкими ИМТ, артериальным давлением и уровнями общего холестерина и гомоцистеина [10]. Вместе с тем было

In recent years, the number of patients with a terminal chronic renal failure steadily increases both throughout the world, and in the Russian Federation. Despite the use of the replacement renal therapy methods which contribute to an increase in life expectancy in this category of patients, the mortality remains persistently high. The nutritional status in patients on hemodialysis has an important predictive value and a considerable impact on morbidity and lethality rates. Results of a number of researches showed that patients on program hemodialysis have a lower body mass index (BMI) in comparison with individuals in the general population corresponding in age and gender. According to various researchers nutritional deficiency occurs in this category of patients in 10–70% of cases [1, 2]. An important role in the development of nutritional deficiency is played by social and economic factors: poor social support, loneliness, low self-esteem in physical and emotional state assessment and impaired cognition [3, 4]. Besides, uremic intoxication leads to a loss of appetite, gastrointestinal disorders (nausea, vomiting), anorexia, which is most pronounced in elderly patients [5].

A number of studies in patients receiving replacement renal therapy have demonstrated the reverse epidemiology phenomenon or “obesity paradox”: lower lethality in patients with higher body weight and an unfavorable prognosis in patients with low values of BMI [6–8]. Even with a BMI more than 39, life expectancy in patients on hemodialysis increases [9]. Research results indicate that greater muscle mass and higher level of body fat contribute to an increased survival. Patients with low BMI, arterial blood pressure, total cholesterol and homocystein levels have the worst survival rate on program hemodialysis [10]. At the same time, it was shown that high values of these risk factors paradoxically played a protective role and were associated with improvement of survival.

The association of high BMI with low lethality in hemodialysis patients is probably due to a more stable hemodynamic status and neurohormonal alterations that determine protective effects of high

показано, что высокие значения этих факторов риска парадоксально играли защитную роль и были ассоциированы с улучшением выживаемости.

Ассоциация высокого ИМТ с низкой летальностью у пациентов на гемодиализе, вероятно, объясняется более стабильным гемодинамическим статусом и нейрогормональными изменениями, обуславливающими протективные эффекты высокого ИМТ [11]. Пациенты с ожирением более толерантны к перемещению больших объемов жидкости во время диализной процедуры, с меньшим риском гипотензии. Выявлена связь между абдоминальным ожирением, воспалением и атеросклерозом и, как следствие, заболеваемостью и смертностью у больных на гемодиализе [12].

В то же время не все исследования подтвердили взаимосвязь между ИМТ и смертностью пациентов на гемодиализе. R. De Mutsert et al., изучая ассоциацию ИМТ и смертности у больных, получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом, и в общей популяции, в возрастной группе от 50 до 75 лет, выявили в обеих группах сходные риски летального исхода, связанные с ИМТ, и сделали предположение об отсутствии обратной связи между ИМТ и смертностью у больных на гемодиализе [12].

В ряде стран отмечается тенденция к старению диализной популяции пациентов. Исследования, проведенные в Японии, показали, что у пациентов на гемодиализе женский пол, ИМТ < 18.5 и наличие сахарного диабета являются прогностически неблагоприятными факторами, влияющими на продолжительность жизни [13]. Другие исследования показали, что наличие ожирения у пациентов, находящихся на гемодиализе, не было связано с увеличением летальности, в то время как у пациентов с ИМТ менее 20 и более 30 летальность увеличивалась двукратно [14]. В ходе проведенного исследования M. Edalat-Nejad et al. сделали вывод о том, что недоедание и имеющиеся признаки воспаления являются значимыми независимыми факторами риска, определяющими летальность у больных на гемодиализе [15].

Пациенты, получающие лечение программным гемодиализом, являются группой риска по развитию белково-энергетической недостаточности, а продолжительность заместительной почечной терапии способствует ухудшению нутритивного статуса [16]. В своем исследовании C. Chazot et al. показали, что потеря веса в течение первого года лечения программным гемоди-

BMI [11]. Patients with obesity are more tolerant of fluid overload during the dialysis procedure, with smaller risk of hypotension. The association between abdominal obesity, inflammation and atherosclerosis and, as a result, morbidity and mortality in hemodialysis patients is revealed [12].

At the same time, not all studies confirmed interrelation between BMI and mortality of hemodialysis patients. R. De Mutsert et al., studying association of BMI and mortality in patients receiving replacement renal therapy by program hemodialysis and in the general population in the age group from 50 to 75 years, revealed the similar risks of lethal outcome associated with BMI in both groups and made the assumption that there is no inverse relationship between BMI and mortality in hemodialysis patients [12].

In a number of countries, there is a tendency to aging of dialysis patients population. The researches conducted in Japan showed that female gender, BMI < 18.5 and existence of diabetes mellitus are prognostically unfavorable factors affecting life expectancy in hemodialysis patients [13]. Other studies showed that existence of obesity in hemodialysis patients was not associated with increase in lethality, while in patients with BMI less than 20 and more than 30, the lethality rate increased twice [14]. During the research M. Edalat-Nejad et al. drew a conclusion that malnutrition and the existing signs of inflammation are the significant independent risk factors determining lethality in the hemodialysis patients [15].

The patients receiving program hemodialysis treatment are at risk of developing protein-energy deficiency, meanwhile the long-term replacement renal therapy contributes to deterioration in the nutritional status [16]. C. Chazot et al. showed that the weight loss within the first year of hemodialysis treatment is associated with the increased risk of mortality, which, according to the authors, emphasizes the key role of nutrition issues and the necessity of regular assessment of the nutritional status in this category of patients [17].

Comprehensive assessment of the nutritional status includes: inquiry about complaints of the patient, knowledge of the anamnesis, assessment of the actual nutrition, anthropometrical measurements, calculation of body mass index, measurement of volume fat free and lean body mass by bioelectrical impedance analysis, laboratory tests (albumin, transferrin, C-reactive protein (CRP), absolute lymphocyte count). Assessment of daily con-

ализом связана с повышенным риском смертности, что, по мнению авторов, подчеркивает ключевую роль вопросов питания и необходимость регулярной оценки нутритивного статуса у этой категории больных [17].

Комплексная оценка нутритивного статуса включает: расспрос о жалобах пациента, знакомство с анамнезом, оценку фактического питания, антропометрические измерения, расчет индекса массы тела, измерение объема безжировой и мышечной массы тела методом биоимпедансометрии, исследование лабораторных показателей (альбумин, трансферрин, С-реактивный белок (СРБ), абсолютное число лимфоцитов крови). Оценку ежедневного потребления белков, жиров, углеводов, витаминов, а также общей калорийности рациона проводят с помощью пищевых дневников, в которых пациенты указывают качественный и количественный состав потребляемой ими пищи [18]. В исследованиях была доказана меньшая достоверность часто используемых 3-дневных пищевых дневников у больных на гемодиализе по сравнению с 7-дневными дневниками, в связи с чем пациентам рекомендуется фиксировать рацион питания и способы обработки пищи в течение недели [19].

В настоящее время нет однозначного мнения в отношении наиболее оптимального метода для определения избыточной массы тела и ожирения. Интегральным показателем, отражающим состояние нутритивного статуса человека, является индекс массы тела [3]. Однако ИМТ не позволяет точно оценить состав тела, так как не дает представления о различии между жировой и мышечной массой. Таким образом, определение ИМТ не позволяет выявить саркопеническое ожирение, характеризующееся уменьшением мышечной массы и накоплением висцерального жира. Кроме того, ИМТ не может быть надежным критерием в диагностике ожирения у пожилых людей в связи с возрастными изменениями в составе тела [19].

Саркопеническое ожирение распространено среди больных с терминальной почечной недостаточностью: эти пациенты имеют нормальный уровень ИМТ, но избыточное количество жировой ткани, выявленное другими методами исследований [20]. Саркопения ассоциирована с развитием метаболических нарушений, атеросклерозом и более высокой летальностью у больных на программном гемодиализе [21]. Многочисленные исследования, проведенные в различных популяционных группах, показали, что ИМТ от 25 до 35 без учета окружности талии, соотноше-

sumption of proteins, fats, carbohydrates, vitamins and also the total caloric intake is carried out using food diaries in which patients give qualitative and quantitative structure of the diet [18]. Studies have shown a lower reliability of frequently used 3-day nutritional diaries in hemodialysis patients in comparison with 7-day diaries. So patients are recommended to record their diet and food processing methods during a week [19].

Nowadays there is no unequivocal opinion concerning the most optimal method for determination of overweight and obesity. The integrated parameter reflecting the nutritional status of the person is body mass index [3]. However, BMI does not allow to assess precisely body composition as it does not give an idea of difference between fat and muscle mass. Thus, determination of BMI does not allow to reveal sarcopenic obesity which is characterized by reduction of muscle mass and accumulation of visceral fat. Besides, BMI cannot be a reliable criterion in diagnostics of obesity in elderly people due to the age-related alterations in body composition [19].

Sarcopenic obesity is widespread among patients with terminal renal failure: these patients have the normal level of BMI, but the excess of adipose tissue detected by other methods of researches [20]. Sarcopenia is associated with development of metabolic disorders, atherosclerosis and higher lethality in hemodialysis patients [21]. Numerous studies conducted in various population groups showed that BMI of 25 to 35 is a risk factor of higher lethality without taking into consideration the waist circumference, the fat and muscle tissue ratio, as well as ethnic characteristics of the constitution and metabolic alterations [22].

In recent years, for determination of visceral obesity both in general population, and in dialysis patients use the following parameters are used: waist circumference (WC), waist / hip circumference ratio (WC/HC) and waist/height ratio. These parameters are easy to determine, and are recognized as the gold standard for the diagnosis of visceral obesity; in addition, their correlation with the outcomes of cardiovascular diseases was proved [23]. Thanks to these parameters there is an opportunity to determine the characteristics of fat distribution in the body and the relationship with morbidity and mortality. It is widely accepted that in the general population the obesity identified by WC/TC ratio is a risk factor for the development of chronic kidney disease (CKD). In turn, in patients

ния жировой и мышечной ткани, а также этнических особенностей конституции и метаболических изменений является фактором риска более высокой летальности [22].

В последние годы для определения висцерального ожирения как в общей популяции, так и у диализных больных используют следующие показатели: окружность талии (ОТ), соотношение окружности талии/окружности бедер (ОТ/ОБ) и соотношение талия/рост. Эти показатели просты в определении, признаны золотым стандартом диагностики висцерального ожирения; кроме того, доказана их корреляция с исходами сердечно-сосудистых заболеваний [23]. Благодаря этим показателям существует возможность определить особенности распределения жира в организме и связь с заболеваемостью и смертностью. Принято считать, что в общей популяции ожирение, выявленное по соотношению ОТ/ОБ, является фактором риска развития хронической болезни почек (ХБП). В свою очередь, у больных с ХБП соотношение ОТ/ОБ — фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний [24].

Таким образом, ОТ и соотношение ОТ/ОБ по сравнению с ИМТ являются лучшими предикторами сердечно-сосудистой смертности у пациентов на гемодиализе, а ОТ — надежный критерий висцерального ожирения у больных ХБП [25]. М. Postorino et al. показали, что среди пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью риск сердечно-сосудистой смерти был максимальным у лиц с низким ИМТ и большей ОТ [26]. С. Zoccali et al. предлагают рассматривать именно ОТ как главный предиктор сердечно-сосудистой смертности. Кроме того, проведенные исследования продемонстрировали связь окружности талии с уровнем концентрации триглицеридов и адипокинов [25].

Однако, по мнению ряда авторов, определение ОТ не является достаточно точным методом для диагностики висцерального ожирения [27]. С.М. Velludo et al., наблюдая в течение года 87 пациентов с ХБП, не получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом, продемонстрировали, что ОТ плохо коррелирует с изменениями висцеральной жировой ткани [28]. Авторы делают вывод о необходимости осторожного использования ОТ как маркера объема висцеральной жировой ткани у этой категории больных.

В то же время проведенные исследования показали, что существует корреляционная связь между объемом и площадью висцерального жира и окружностью талии [29]. Абдоминальное ожи-

with CKD a WC/TC ratio is a risk factor for cardiovascular diseases [24].

Thus, WC and WC/HC ratio in comparison with BMI are the best predictors of cardiovascular mortality in hemodialysis patients, and WC is reliable criterion of visceral obesity in patients with CKD [25]. М. Postorino et al. showed that individuals with low BMI and greater WC had the maximum risk of cardiovascular death among patients with terminal chronic renal failure [26]. С. Zoccali et al. suggest to consider WC value as the main predictor of cardiovascular mortality. Besides, the conducted studies showed that waist circumference is related to the triglycerides and adipokines concentration [25].

However, according to a number of authors, the determination of WC is not an accurate method for the diagnosis of visceral obesity [27]. Within a year С.М. Velludo et al., followed up 87 patients with CKD who were not receiving replacement renal therapy by program hemodialysis and showed that WC correlates with changes in visceral adipose tissue badly. The authors conclude that it is necessary to carefully use WC value as a marker of visceral adipose tissue volume in patients of this category.

At the same time, studies showed that there is a correlation relationship between the volume and the area of visceral fat and waist circumference [29]. The abdominal obesity determined on the basis of WC and WC/TC is one of the diagnostic criteria of metabolic syndrome as visceral adipose tissue is its key component.

According to H.W. El Said et al., to date there is no better anthropometric method for determining abdominal obesity in hemodialysis patients. Also there is no answer to the question whether the amount of intra-abdominal fat is a risk factor for morbidity and mortality in this category of patients [30].

The patients receiving program hemodialysis treatment is a population of sick people in which hypoalbuminemia and inflammation are the main predictors of the risk of early mortality [10]. С. Delgado et al. found a direct relationship between BMI and markers of inflammation and lack of a link with nutrition markers, and also, having studied the association of visceral and subcutaneous fat with markers of nutrition and inflammation in hemodialysis patients, these authors suggest subcutaneous fat be considered as a nutrition marker, and visceral fat — as an indicator of inflammation [31].

In early studies, serum albumin was considered as a marker of a visceral fat pool and was the

рение, определяемое на основании ОТ и ОТ/ОБ, является одним из критериев диагностики метаболического синдрома, так как висцеральная жировая ткань — его ключевой компонент.

По мнению H.W. El Said et al., на сегодняшний день нет лучшего антропометрического метода для определения абдоминального ожирения у пациентов на гемодиализе. И нет ответа на вопрос, является ли количество внутрибрюшного жира фактором риска заболеваемости и смертности у данной категории пациентов [30].

Пациенты, получающие лечение программным гемодиализом — это популяция больных, у которых гипоальбуминемия и воспаление являются главными предикторами риска ранней летальности [10]. С. Delgado et al. выявили прямую связь ИМТ с маркерами воспаления и отсутствие связи с маркерами питания, а также, изучив связь висцерального и подкожного жира с маркерами питания и воспаления у пациентов на программном гемодиализе, предлагают рассматривать подкожный жир как индикатор питания, а висцеральный жир — как индикатор воспаления [31].

В ранних исследованиях сывороточный альбумин рассматривался как маркер состояния пула висцерального жира и являлся основным маркером для оценки состояния питания. Однако современные исследования показывают, что низкий сывороточный альбумин — это скорее маркер воспаления, а его ценность как маркера, отражающего состояние нутритивного статуса, ограничена [32]. Воспаление, обычно оцениваемое по уровню СРБ, является характерной особенностью ХБП, вызванной токсической уремической интоксикацией и процедурой диализа [33]. Известно, что воспаление способствует снижению уровня сывороточного альбумина и играет роль в развитии недостаточности питания и атеросклероза, что, в свою очередь, ассоциируется с неблагоприятным исходом вследствие сердечно-сосудистой патологии [34]. Альбумин имеет более длительный период полураспада и меньшую вариабельность, чем традиционные маркеры воспаления, такие как СРБ, и лучше отражает устойчивое воспаление. Поэтому альбумин и СРБ необходимо определять вместе для оценки риска летального исхода [35].

Ряд исследований показали, что применение калиперометрии для оценки нутритивного статуса у больных на программном гемодиализе может давать значительную погрешность за счет отека подкожно-жировой клетчатки, а также точности измерений, связанных с различным давлением, оказываемым на калипер.

main marker for assessment of a nutritional status. However, modern researches show that a low serum albumin is rather a marker of inflammation, and its value as a nutritional state marker is limited [32]. Inflammation usually estimated by the CRP level is a characteristic of CKD, caused by uremic intoxication and the dialysis procedure [33]. It is known that inflammation promotes decrease in serum albumin level and takes part in development of malnutrition and atherosclerosis which, in turn, is associated with an adverse outcome owing to cardiovascular pathology [34]. Albumin has longer half-life and smaller variability than traditional markers of inflammation, such as CRP, and reflects steady inflammation better. Therefore, to assess the lethal outcome risk the albumin and CRP have to be determined together [35].

A number of studies have shown that the use of calipometry to assess nutritional status in hemodialysis patients can be in a significant error due to subcutaneous fat swelling, as well as discrepancy in measurements caused by different pressures exerted on the caliper.

The most precise information on the ratio of body composition components can be obtained by bioelectrical impedance analysis, which allows to determine fat and lean body mass, skeletal muscle mass, as well as body water content, especially in patients with edema. In addition, this study is characterized by non-invasiveness and high precision of the results obtained. Bioelectrical impedance analysis is a more optimal method in the assessment of malnutrition than BMI and serum albumin level. R. Valtuille et al. demonstrated that the degree of hydration determined by bioelectrical impedance analysis is more reliable method for assessing poor nutrition than the BMI index and serum albumin level [36]. M. Tabinor et al. demonstrated that the degree of hydration determined by bioelectrical impedance analysis is an independent predictor of death in hemodialysis patients [37].

According to T. Yurugi et al., the increase in visceral fat area (calculated by formula  $S = V/h$ , where  $V$  is the volume of fat tissue,  $h$  is the length of the scan zone) in patients on hemodialysis is more common than high BMI, increased low density lipoprotein cholesterol and triglyceride levels [38]. In studies of A.C. Cordeiro et al., the association of visceral obesity with inflammation and protein-energy wasting was identified as a risk factor for increased mortality [39]. Thus, this study confirms the hypothesis that the fat tissue

Наиболее точную информацию о соотношении компонентов состава тела можно получить с помощью биоимпедансометрии, которая позволяет определить жировую и тощую массу, массу скелетных мышц, а также содержание воды в организме, особенно у пациентов с наличием отеков. Кроме того, данное исследование характеризуется неинвазивностью и высокой точностью получаемых результатов. Биоимпедансометрия является более оптимальным методом в оценке недостаточности питания, чем индекс массы тела и уровень сывороточного альбумина. R. Valtuille et al. продемонстрировали, что степень гидратации, определенная методом биоимпедансометрии, является более надежным методом оценки недостаточности питания, чем определение индекса массы тела и уровня сывороточного альбумина [36]. M. Tabinor et al. продемонстрировали, что степень гидратации, определенная методом биоимпедансометрии, является независимым предиктором летального исхода у пациентов на гемодиализе [37].

По данным T. Yurugi et al., увеличение площади висцерального жира (расчитывается по формуле  $S = V/h$ , где  $V$  – объем клетчатки,  $h$  – длина зоны сканирования) у больных на гемодиализе встречается чаще, чем высокие ИМТ, уровни липопротеидов низкой плотности и триглицеридов [38]. В исследованиях A.C. Cordeiro et al. была выявлена связь висцерального ожирения с воспалением и белково-энергетической недостаточностью как фактора риска увеличения летальности [39]. Таким образом, это исследование подтверждает гипотезу, что распределение жировой клетчатки в организме может оказывать различное влияние на исход заболевания. Выявлена связь абдоминального жира с кальцификацией коронарных артерий у пациентов с додиализной ХБП и находящихся на программном гемодиализе и определена его потенциальная роль как фактора сердечно-сосудистого риска при уремии [40, 41].

Исследования многих авторов показали, что висцеральное ожирение связано с нарушенным липидным обменом, провоспалительной активностью и инсулинорезистентностью как в общей популяции, так и у больных на гемодиализе. Кроме того, описана связь висцерального ожирения с воспалением и атеросклерозом и, как следствие, сердечно-сосудистыми событиями и смертностью у пациентов, находящихся на диализе [39]. Исследование, проведенное Y. Moriyama et al., выявило значительно более высокую частоту сердечно-сосудистых заболеваний, особен-

distribution in the body can have different effects on the disease outcome. The association of abdominal fat deposition with coronary artery calcification in patients with pre-dialysis CKD and those on program hemodialysis was identified and its potential role as a factor of cardiovascular risk in uremia was determined [40, 41].

Studies by many authors have shown that visceral obesity is associated with impaired lipid metabolism, pro-inflammatory activity and insulin resistance in both the general population and hemodialysis patients. In addition, the association of visceral obesity with inflammation and atherosclerosis and, as a consequence, cardiovascular events and mortality in patients on dialysis are described [39]. The Y. Moriyama et al. study revealed a significantly higher cardiovascular incidence, especially ischemic heart disease (ICD), high levels of serum triglycerides, and significantly lower level of high density lipoproteins (HDL) in hemodialysis patients having visceral fat tissue area of 100 cm<sup>2</sup> or more [42]. E. Ishimura et al., studying the association between adipose tissue distribution and chronic inflammation in hemodialysis patients, found that it is the accumulation of fat mass in the abdominal region at the level of IV–V lumbar vertebrae is reliably associated with the level of highly sensitive C-reactive protein in blood serum [43].

M.C. Amato et al. offered the visceral adiposity index (VAI) based on the results of waist circumference measurement, BMI calculation, determination of triglyceride and HDL cholesterol levels [44]. According to a number of researchers, VAI is associated with cardiometabolic risks and is a predictor of cardiovascular events involving ischemic heart disease and cerebrovascular diseases in general population. However, it should be noted that the significance of VAI in hemodialysis patients is not sufficiently studied. A number of studies have demonstrated that VAI is a better predictor of cardiovascular outcomes than WC, WC/height ratio and BMI [44, 45]. At the same time, a large population study showed that VAI is a weaker predictor of cardiovascular disease than simple anthropometric parameters, such as WC or WC/height ratio [46].

According to B. Mohammadreza et al., in comparison to the results of computed tomography, the WC/ height ratio and VAI are less precise criteria for assessing the morbidity and mortality risk in obese hemodialysis patients [47].

но ишемической болезни сердца (ИБС), высокие уровни сывороточных триглицеридов и значительно более низкий уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) у пациентов на программном гемодиализе, имеющих площадь висцеральной жировой ткани 100 см<sup>2</sup> и более [42]. E. Ishimura et al., изучая взаимосвязь между распределением жировой ткани и хроническим воспалением у пациентов на гемодиализе, установили, что именно накопление жировой массы в абдоминальной области на уровне IV–V поясничных позвонков достоверно ассоциировано с уровнем высокочувствительного С-реактивного белка в сыворотке крови [43].

М.С. Amato et al. предложен индекс висцерального ожирения (ИВО), основанный на результатах измерения окружности талии, расчета ИМТ, определении уровня триглицеридов и холестерина ЛПВП [44]. По мнению ряда исследователей, ИВО ассоциирован с кардиометаболическими рисками и является предиктором кардиоваскулярных событий, включающих ишемическую болезнь сердца и цереброваскулярные заболевания в общей популяции. Однако необходимо отметить, что значимость ИВО у больных на гемодиализе изучена недостаточно. Ряд исследований продемонстрировали, что ИВО является лучшим предиктором сердечно-сосудистых исходов, чем ОТ, соотношение ОТ/рост и ИМТ [44, 45]. В то же время проведенное большое популяционное исследование показало, что ИВО — более слабый предиктор возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, чем простые антропометрические показатели, такие как ОТ или соотношение ОТ/рост [46].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бикбов В.Т., Томила Н.А. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2011 гг. (Отчет по данным Российского регистра заместительной терапии. Часть первая) // Нефрология и диализ. 2014. № 1. С. 11–127.
2. Милованов Ю.С., Милованова Н.И. Нарушения нутритивного статуса при почечной недостаточности: Руководство для врачей. М.: Гэотар-Медиа, 2016. 168 с.
3. Шутков Е.В. Нутритивный статус у больных с хронической почечной недостаточностью // Нефрология и диализ. 2008. Т. 10, № 3–4. С. 199–208.
4. Martini A., Ammirati A., Garcia C. et al. Evaluation of quality of life, physical, and mental aspects in longevous patients with chronic kidney disease // *Int. Urol. Nephrol.* 2018 Apr. Vol. 50 (4). P. 725–731. doi: 10.1007/s11255-018-1813-1.

## CONCLUSION

Numerous studies have demonstrated a high prevalence of nutritional status disorders in hemodialysis patients. However, the prevalence of these disorders varies depending on the method used to determine them. Thus, to date, the search for the most optimal method for diagnosing nutritional status disorders that affect the prognosis continues.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

По мнению В. Mohammadreza et al., по сравнению с результатами компьютерной томографии соотношение ОТ/рост и ИВО являются менее точными критериями оценки заболеваемости и риска летального исхода у больных с ожирением на программном гемодиализе [47].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные многочисленные исследования продемонстрировали высокую распространенность нарушений нутритивного статуса у больных на гемодиализе. Однако распространенность этих нарушений различается в зависимости от метода, используемого для их определения. Таким образом, на сегодняшний день продолжается поиск наиболее оптимального метода для диагностики нарушений нутритивного статуса, влияющего на прогноз.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## REFERENCES

1. Bikbov V.T., Tomilina N.A. (2014). Renal replacement therapy for ESRD patients in the Russian Federation. 1998–2011 Report of Russian RRT Registry. Part 1. *Nephrology and Dialysis*, 1, 11–127.
2. Milovanov Yu.S., Milovanova N.I. (2016). *Nutritional Status Disorders in Case of Kidney Failure: Guidance for Doctors*. Moscow: Geotar-Media, 168 p. In Russ.
3. Shutov E.V. (2008). Nutritional status in patients with chronic renal failure. *Nephrology and Dialysis*, 10, 3–4, 199–208. In Russ.
4. Martini A., Ammirati A., Garcia C. et al. (2018, Apr). Evaluation of quality of life, physical, and mental aspects in longevous patients with chronic kidney disease. *Int. Urol. Nephrol.*, 50 (4), 725–731. doi: 10.1007/s11255-018-1813-1.
5. Carrera-Jiménez D., Miranda-Alatríste P., Atilano-Carsi X., Correa-Rotter R., Espinosa-Cuevas Á. (2018). Relationship between nutritional status and

5. Carrera-Jiménez D., Miranda-Alatristerre P., Atilano-Carsi X., Correa-Rotter R., Espinosa-Cuevas Á. Relationship between nutritional status and gastrointestinal symptoms in geriatric patients with end-stage renal disease on dialysis // *Nutrients*. 2018. Vol. 10 (4): 425. doi: 10.3390/nu10040425.
6. Coresh J., Astor B.C., Greene T., Eknoyan G., Levey A.S. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey // *Am. J. Kidney Dis.* 2003. Vol. 41 (1). P. 1–12. doi: 10.1053/ajkd.2003.50007.
7. Bologa R.M., Levine D.M., Parker T.S. et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients // *Am. J. Kidney Dis.* 1998 Jul. Vol. 32 (1). P. 107–114. doi: 10.1053/ajkd.1998.v32.pm9669431.
8. Pifer T.B., McCullough K.P., Port F.K. et al. Mortality risk in hemodialysis patients and changes in nutritional indicators: DOPPS // *Kidney Int.* 2002 Dec. Vol. 62 (6). P. 2238–2245. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00658.x.
9. Johansen K.L., Young B., Kaysen G.A., Chertow G.M. Association of body size with outcomes among patients beginning dialysis // *Am. J. Clin. Nutr.* 2004. Vol. 80 (2). P. 324–332. doi: 10.1093/ajcn/80.2.324.
10. Kalantar-Zadeh K., Rhee C.M., Chou J. et al. The obesity paradox in kidney disease: how to reconcile it with obesity management // *Kidney Int. Rep.* 2017 Mar. Vol. 2 (2). P. 271–281.
11. Jialin W., Yi Z., Weijie Y. Relationship between body mass index and mortality in hemodialysis patients: a meta-analysis // *Nephron Clin. Pract.* 2012. Vol. 121 (3–4): c102–c111. doi: 10.1159/000345159.
12. De Mutsert R., Snijder M.B., Van Der Sman-de Beer F. et al. Association between body mass index and mortality is similar in the hemodialysis population and the general population at high age and equal duration of follow-up // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. Vol. 18 (3). P. 967–974. doi: 10.1681/ASN.2006091050.
13. Takeuchi H., Uchida H.A., Kakio Y. et al. The prevalence of frailty and its associated factors in Japanese hemodialysis patients // *Aging Dis.* 2018 Apr 1. Vol. 9 (2). P. 192–207. doi: 10.14336/AD.2017.0429.
14. Hoogeveen E.K., Halbesma N., Rothman K.J. et al. Obesity and mortality risk among younger dialysis patients // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2012 Feb 5. Vol. 7 (2). P. 280–288. doi: 10.2215/CJN.05700611.
15. Edalat-Nejad M., Zamani F., Qlich-Khani M., Salehi F. Geriatric nutritional risk index: a mortality predictor in hemodialysis patients // *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* 2015 Mar. Vol. 26 (2). P. 302–308. doi: 10.4103/1319-2442.152445.
16. Alvarenga L.A., Andrade B.D., Moreira M.A. et al. Nutritional profile of hemodialysis patients concerning treatment time // *J. Bras. Nefrol.* 2017 Jul-Sep. Vol. 39 (3). P. 283–286. doi: 10.5935/0101-2800.20170052.
17. Chazot C., Deleaval P., Bernollin A.L. et al. Target weight gain during the first year of hemodialysis therapy is associated with patient survival // *Nephron. Clin. Pract.* 2014. Vol. 126 (3). P. 128–134. doi: 10.1159/000362211.
18. Диетология: Руководство / под ред. А.Ю. Барановского. 5-е изд-е, перераб. и доп. СПб.: Питер, 2017. 1104 с. (Серия «Спутник врача»).
19. Rodrigues J., Santin F., Barbosa Brito F.S. et al. (2016, Mar). Sensitivity and specificity of body mass index gastrointestinal symptoms in geriatric patients with end-stage renal disease on dialysis. *Nutrients*, 10 (4), 425. doi: 10.3390/nu10040425.
20. Coresh J., Astor B.C., Greene T., Eknoyan G., Levey A.S. (2003). Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey, *Am. J. Kidney Dis.*, 41 (1), 1–12. doi: 10.1053/ajkd.2003.50007.
21. Bologa R.M., Levine D.M., Parker T.S. et al. (1998, Jul). Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.*, 32 (1), 107–114. doi: 10.1053/ajkd.1998.v32.pm9669431.
22. Pifer T.B., McCullough K.P., Port F.K. et al. (2002, Dec). Mortality risk in hemodialysis patients and changes in nutritional indicators: DOPPS. *Kidney Int.*, 62 (6), 2238–2245. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00658.x.
23. Johansen K.L., Young B., Kaysen G.A., Ghertow G.M. (2004). Association of body size with outcomes among patients beginning dialysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80 (2), 324–332. doi: 10.1093/ajcn/80.2.324.
24. Kalantar-Zadeh K., Rhee C.M., Chou J. et al. (2017, Mar). The obesity paradox in kidney disease: how to reconcile it with obesity management. *Kidney Int. Rep.*, 2 (2), 271–281.
25. Jialin W., Yi Z., Weijie Y. (2012). Relationship between body mass index and mortality in hemodialysis patients: a meta-analysis. *Nephron Clin. Pract.*, 121 (3–4), c102–c111. doi: 10.1159/000345159.
26. De Mutsert R., Snijder M.B., Van Der Sman-de Beer F. et al. (2007). Association between body mass index and mortality is similar in the hemodialysis population and the general population at high age and equal duration of follow-up. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 18 (3), 967–974. doi: 10.1681/ASN.2006091050.
27. Takeuchi H., Uchida H.A., Kakio Y. et al. (2018, Apr 1). The prevalence of frailty and its associated factors in Japanese hemodialysis patients. *Aging Dis.*, 9 (2), 192–207. doi: 10.14336/AD.2017.0429.
28. Hoogeveen E.K., Halbesma N., Rothman K.J. et al. (2012, Feb 5). Obesity and mortality risk among younger dialysis patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 7 (2), 280–288. doi: 10.2215/CJN.05700611.
29. Edalat-Nejad M., Zamani F., Qlich-Khani M., Salehi F. (2015, Mar). Geriatric nutritional risk index: a mortality predictor in hemodialysis patients. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, 26 (2), 302–308. doi: 10.4103/1319-2442.152445.
30. Alvarenga L.A., Andrade B.D., Moreira M.A. et al. (2017, Jul-Sep). Nutritional profile of hemodialysis patients concerning treatment time. *J. Bras. Nefrol.*, 39 (3), 283–286. doi: 10.5935/0101-2800.20170052.
31. Chazot C., Deleaval P., Bernollin A.L. et al. (2014). Target weight gain during the first year of hemodialysis therapy is associated with patient survival // *Nephron. Clin. Pract.*, 126 (3), 128–134. doi: 10.1159/000362211.
32. Baranovsky A.Yu. (Ed.) (2017). *Dietology: Guidance*. St. Petersburg, 1104 p. In Russ.
33. Rodrigues J., Santin F., Barbosa Brito F.S. et al. (2016, Mar). Sensitivity and specificity of body mass index

19. Rodrigues J., Santin F., Barbosa Brito F.S. et al. Sensitivity and specificity of body mass index as a marker of obesity in elderly patients on hemodialysis // *J. Ren. Nutr.* 2016 Mar. Vol. 26 (2). P. 65–71. doi: 10.1053/j.jrn.2015.09.001.
20. Abramowitz M.K., Sharma D., Folkert V.W. Hidden obesity in dialysis patients: clinical implications // *Semin. Dial.* 2016 Sep. Vol. 29 (5). P. 391–395. doi: 10.1111/sdi.12516.
21. Johansen K.L., Lee C. Body composition in chronic kidney disease // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2015. Vol. 24 (3). P. 268–275. doi: 10.1097/MNH.000000000000120.
22. Самородская И.В. Необходимы ли новые подходы к оценке ожирения? // *Клин. медицина.* 2015. Т. 93, № 1. С 29–34.
23. Zoccali C., Torino C., Tripepi G., Mallamaci F. Assessment of obesity in chronic kidney disease: what is the best measure? // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2012. Vol. 21 (6). P. 641–646. doi: 10.1097/MNH.ob013e328358a02b.
24. Elsayed E.F., Sarnak M.J., Tighiouart H. et al. Waist-to-hip ratio, body mass index, and subsequent kidney disease and death // *Am. J. Kidney Dis.* 2008. Vol. 52 (1). P. 29–38. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.02.363.
25. Zoccali C., Postorino M., Marino C. et al. Waist circumference modifies the relationship between the adipose tissue cytokines leptin and adiponectin and all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients // *J. Intern. Med.* 2011. Vol. 269 (2). P. 172–181. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02288.x.
26. Postorino M., Marino C., Tripepi G. et al. Abdominal obesity and all-cause and cardiovascular mortality in end-stage renal disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009. Vol. 53 (15). P. 1265–1272. doi: 10.1016/j.jacc.2008.12.040.
27. Chen H.Y., Chiu Y.L., Chuang Y.F. et al. Visceral adiposity index and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients // *Cardiovasc. Diabetol.* 2014. Vol. 13: 136. doi: 10.1186/s12933-014-0136-5.
28. Velludo C.M., Kamimura M.A., Sanches F.M. et al. Prospective evaluation of waist circumference and visceral adipose tissue in patients with chronic kidney disease // *Am. J. Nephrol.* 2010. Vol. 31 (2). P. 104–109. doi: 10.1159/000259896.
29. Романцова Т.И., Полубояринова И.В., Роик О.В. Динамика состояния жировой ткани по данным МРТ-томографии у больных ожирением на фоне лечения Редуксином // *Ожирение и метаболизм.* 2012. Т. 9, № 4. С. 39–43.
30. El Said H.W., Mohamed O.M., El Said T.W., El Serwi A.B. Central obesity and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients // *Int. Urol. Nephrol.* 2017 Jul. Vol. 49 (7). P. 1251–1260. doi: 10.1007/s11255-017-1568-0.
31. Delgado C., Chertow G.M., Kaysen G.A. et al. Associations of body mass index and body fat with markers of inflammation and nutrition among patients receiving hemodialysis // *Am. J. Kidney Dis.* 2017 Dec. Vol. 70 (6). P. 817–825. doi: 10.1053/j.ajkd.2017.06.028.
32. Gama-Axelsson T., Heimbürger O., Stenvinkel P. et al. Serum albumin as predictor of nutritional status in patients with ESRD // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2012 Sep. Vol. 7 (9). P. 1446–1453. doi: 10.2215/CJN.10251011.
- as a marker of obesity in elderly patients on hemodialysis. *J. Ren. Nutr.*, 26 (2), 65–71. doi: 10.1053/j.jrn.2015.09.001.
20. Abramowitz M.K., Sharma D., Folkert V.W. (2016, Sep). Hidden obesity in dialysis patients: clinical implications. *Semin. Dial.*, 29 (5), 391–395. doi: 10.1111/sdi.12516.
21. Johansen K.L., Lee C. (2015). Body composition in chronic kidney disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 24 (3), 268–275. doi: 10.1097/MNH.000000000000120.
22. Samorodskaya I.V. (2015). Do we need approaches to evaluate obesity? *Clinical Medicine (Russ. Journal)*, 93 (1), 29–34.
23. Zoccali C., Torino C., Tripepi G., Mallamaci F. (2012). Assessment of obesity in chronic kidney disease: what is the best measure? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 21 (6), 641–646. doi: 10.1097/MNH.ob013e328358a02b.
24. Elsayed E.F., Sarnak M.J., Tighiouart H. et al. (2008). Waist-to-hip ratio, body mass index, and subsequent kidney disease and death. *Am. J. Kidney Dis.*, 52 (1), 29–38. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.02.363.
25. Zoccali C., Postorino M., Marino C. et al. (2011). Waist circumference modifies the relationship between the adipose tissue cytokines leptin and adiponectin and all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *J. Intern. Med.*, 269 (2), 172–181. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02288.x.
26. Postorino M., Marino C., Tripepi G. et al. (2009). Abdominal obesity and all-cause and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 53 (15), 1265–1272. doi: 10.1016/j.jacc.2008.12.040.
27. Chen H.Y., Chiu Y.L., Chuang Y.F. et al. (2014). Visceral adiposity index and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients. *Cardiovasc. Diabetol.*, 13, 136. doi: 10.1186/s12933-014-0136-5.
28. Velludo C.M., Kamimura M.A., Sanches F.M. et al. (2010). Prospective evaluation of waist circumference and visceral adipose tissue in patients with chronic kidney disease. *Am. J. Nephrol.*, 31 (2), 104–109. doi: 10.1159/000259896.
29. Romantsova T.I., Poluboyarinoва I.V., Roik O.V. (2012). Dynamics of adipose tissue changes measured by MRI in obese patients during Reduxin treatment. *Obesity and Metabolism*, 9 (4), 39–43.
30. El Said H.W., Mohamed O.M., El Said T.W., El Serwi A.B. (2017, Jul). Central obesity and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.*, 49 (7), 1251–1260. doi: 10.1007/s11255-017-1568-0.
31. Delgado C., Chertow G.M., Kaysen G.A. et al. (2017, Dec). Associations of body mass index and body fat with markers of inflammation and nutrition among patients receiving hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.*, 70 (6), 817–825. doi: 10.1053/j.ajkd.2017.06.028.
32. Gama-Axelsson T., Heimbürger O., Stenvinkel P. et al. (2012, Sep). Serum albumin as predictor of nutritional status in patients with ESRD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 7 (9), 1446–1453. doi: 10.2215/CJN.10251011.

33. Cobo G., Qureshi A.R., Lindholm B., Stenvinkel P. C-reactive protein: repeated measurements will improve dialysis patient care // *Semin. Dial.* 2016 Jan-Feb. Vol. 29 (1). P. 7–14. doi: 10.1111/sdi.12440.
34. Stirbu O., Gadalean F., Pitea I.V. et al. C-reactive protein as a prognostic risk factor for loss of arteriovenous fistula patency in hemodialyzed patients // *J. Vasc. Surg.* 2019. Vol. 70 (1). P. 208–215. doi: 10.1016/j.jvs.2018.10.100.
35. Alves F.C., Sun J., Qureshi A.R. et al. The higher mortality associated with low serum albumin is dependent on systemic inflammation in end-stage kidney disease // *PLoS One*. 2018 Jan 3. Vol. 13 (1): e0190410. doi: 10.1371/journal.pone.0190410.
36. Valtuille R., Casos M.E., Fernandez E.A., Guinsburg A., Marelli C. Nutritional markers and body composition in hemodialysis patients // *Int. Sch. Res. Notices*. 2015 Jan 11. ID: 695263. 7 p. doi: 10.1155/2015/695263.
37. Tabinor M., Elphick E., Dudson M. et al. Bioimpedance-defined overhydration predicts survival in end stage kidney failure (ESKF): systematic review and subgroup meta-analysis // *Sci. Rep.* 2018 Mar 13. Vol. 8 (1). Art. numb.: 4441 (2018). doi: 10.1038/s41598-018-21226-y.
38. Yurugi T., Morimoto S., Okamoto T. et al. Accumulation of visceral fat in maintenance hemodialysis patients // *Clin. Exp. Nephrol.* 2012 Feb. Vol. 16 (1). P. 156–163. doi: 10.1007/s10157-011-0544-8.
39. Cordeiro A.C., Qureshi A.R., Stenvinkel P. et al. Abdominal fat deposition is associated with increased inflammation, protein-energy wasting and worse outcome in patients undergoing haemodialysis // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25 (2). P. 562–568. doi: 10.1093/ndt/gfp492.
40. Spatola L., Finazzi S., Calvetta A., Angelini C., Badalamenti S. Subjective Global Assessment-Dialysis Malnutrition Score and arteriovenous fistula outcome: A comparison with Charlson Comorbidity Index // *J. Vasc. Access.* 2019 Jan. Vol. 20 (1). P. 70–78. doi: 10.1177/1129729818779550.
41. Okamoto T., Hatakeyama S., Kodama H. et al. The relationship between poor nutritional status and progression of aortic calcification in patients on maintenance hemodialysis // *BMC Nephrol.* 2018 Mar 20. Vol. 19 (1). Art. numb.: 71 (2018). doi: 10.1186/s12882-018-0872-y.
42. Moriyama Y., Eriguchi R., Sato Y., Nakaya Y. Chronic hemodialysis patients with visceral obesity have a higher risk for cardiovascular events // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 20 (1). P. 109–117.
43. Ishimura E., Okuno S., Tsuboniwa N. et al. Relationship between fat mass and serum high-sensitivity C-reactive protein levels in prevalent hemodialysis patients // *Nephron. Clin. Pract.* 2011. Vol. 119 (4). P. 283–288. doi: 10.1159/000328931.
44. Amato M.C., Giordano C., Galia M. et al. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk // *Diabetes Care.* 2010. Vol. 33 (4). P. 920–922. doi: 10.2337/dc09-1825.
45. Amato M.C., Giordano C., Pitrone M., Galluzzo A. Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) indentifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian
33. Cobo G., Qureshi A.R., Lindholm B., Stenvinkel P. (2016, Jan-Feb). C-reactive protein: repeated measurements will improve dialysis patient care. *Semin. Dial.*, 29 (1), 7–14. doi: 10.1111/sdi.12440.
34. Stirbu O., Gadalean F., Pitea I.V. et al. (2019). C-reactive protein as a prognostic risk factor for loss of arteriovenous fistula patency in hemodialyzed patients. *J. Vasc. Surg.*, 70 (1), 208–215. doi: 10.1016/j.jvs.2018.10.100.
35. Alves F.C., Sun J., Qureshi A.R. et al. (2018). The higher mortality associated with low serum albumin is dependent on systemic inflammation in end-stage kidney disease. *PLoS One*, 13 (1), e0190410. doi: 10.1371/journal.pone.0190410.
36. Valtuille R., Casos M.E., Fernandez E.A., Guinsburg A., Marelli C. (2015, Jan). Nutritional markers and body composition in hemodialysis patients. *Int. Sch. Res. Notices*. doi: 10.1155/2015/695263.
37. Tabinor M., Elphick E., Dudson M. et al. (2015). Bioimpedance-defined overhydration predicts survival in end stage kidney failure (ESKF): systematic review and subgroup meta-analysis. *Sci. Rep.*, 8 (1). doi: 10.1038/s41598-018-21226-y.
38. Yurugi T., Morimoto S., Okamoto T. et al. (2012). Accumulation of visceral fat in maintenance hemodialysis patients. *Clin. Exp. Nephrol.*, 16 (1), 156–163. doi: 10.1007/s10157-011-0544-8.
39. Cordeiro A.C., Qureshi A.R., Stenvinkel P. et al. (2010). Abdominal fat deposition is associated with increased inflammation, protein-energy wasting and worse outcome in patients undergoing haemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 25 (2), 562–568. doi: 10.1093/ndt/gfp492.
40. Spatola L., Finazzi S., Calvetta A., Angelini C., Badalamenti S. (2019, Jan). Subjective Global Assessment-Dialysis Malnutrition Score and arteriovenous fistula outcome: A comparison with Charlson Comorbidity Index. *J. Vasc. Access.*, 20 (1), 70–78. doi: 10.1177/1129729818779550.
41. Okamoto T., Hatakeyama S., Kodama H. et al. (2018). The relationship between poor nutritional status and progression of aortic calcification in patients on maintenance hemodialysis. *BMC Nephrol.*, 19 (1). doi: 10.1186/s12882-018-0872-y.
42. Moriyama Y., Eriguchi R., Sato Y., Nakaya Y. (2011). Chronic hemodialysis patients with visceral obesity have a higher risk for cardiovascular events. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 20 (1), 109–117.
43. Ishimura E., Okuno S., Tsuboniwa N. et al. (2011). Relationship between fat mass and serum high-sensitivity C-reactive protein levels in prevalent hemodialysis patients. *Nephron. Clin. Pract.*, 119 (4), 283–288. doi: 10.1159/000328931.
44. Amato M.C., Giordano C., Galia M. et al. (2010). Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*, 33 (4), 920–922. doi: 10.2337/dc09-1825.
45. Amato M.C., Giordano C., Pitrone M., Galluzzo A. (2011). Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) indentifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian population. *Lipid Health Dis.*, 10, 183. doi: 10.1186/1476-511X-10-183.

- population // *Lipid Health Dis.* 2011. Vol. 10. Art. numb.: 183 (2011). doi: 10.1186/1476-511X-10-183.
46. Kaysen G.A., Kotanko P., Zhu F. et al. Relationship between adiposity and cardiovascular risk factors in prevalent hemodialysis patients // *J. Ren. Nutr.* 2009. Vol. 19 (5). P. 357–364. doi: 10.1053/j.jrn.2009.04.002.
47. Mohammadreza B., Farzad H., Davoud K., Fereidoun A.F. Prognostic significance of the complex “Visceral Adiposity Index” vs. simple anthropometric measures: Tehran lipid and glucose study // *Cardiovasc Diabetol.* 2012. Vol. 11. Art. numb.: 20 (2012). doi: 10.1186/1475-2840-11-20.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Королева Инна Евгеньевна** — врач-трансфузиолог ФБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница».

**Абрамова Екатерина Эдуардовна** — канд. мед. наук, ассистент кафедры внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Тов Никита Львович** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Мовчан Елена Анатольевна** — д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней им. акад. Л.Д. Сидоровой ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Образец цитирования:** Королева И.Е., Абрамова Е.Э., Тов Н.Л., Мовчан Е.А. Нутритивный статус и методы его оценки у больных на гемодиализе (обзор литературы) // *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2020. № 1. С. 116–127.

46. Kaysen G.A., Kotanko P., Zhu F. et al. (2009). Relationship between adiposity and cardiovascular risk factors in prevalent hemodialysis patients. *J. Ren. Nutr.*, 19 (5), 357–364. doi: 10.1053/j.jrn.2009.04.002.
47. Mohammadreza B., Farzad H., Davoud K., Fereidoun A.F. (2012). Prognostic significance of the complex “Visceral Adiposity Index” vs. simple anthropometric measures: Tehran lipid and glucose study. *Cardiovasc. Diabetol.*, 11, 20. doi: 10.1186/1475-2840-11-20.

### ABOUT THE AUTHORS

**Koroleva Inna Evgenyevna** — Transfusiologist, Novosibirsk Regional Clinical Hospital.

**Abramova Ekaterina Eduardovna** — Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University.

**Tov Nikita Lvovich** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University.

**Movchan Elena Anatolyevna** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Internal Diseases n.a. L.D. Sidорова, Novosibirsk State Medical University.

**Citation example:** Koroleva I.E., Abramova E.E., Tov N.L., Movchan E.A. (2020). Nutritional status and methods of its evaluation in patients on hemodialysis (literature review). *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 116–127.

### ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЕНИЮ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В JOURNAL OF SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

В Journal of Siberian Medical Sciences (далее — JSMS) публикуются научные обзоры и статьи по медицинским наукам, подготовленные по материалам оригинальных научных исследований. JSMS выходит 4 раза в год.

Требования, предъявляемые к публикациям в JSMS, сформулированы с учетом требований, предъявляемых к рецензируемым научным изданиям, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Статьи, отправленные авторами в другие издания и/или напечатанные ранее в них, к опубликованию не принимаются.

При описании научно-исследовательских клинических работ с привлечением человека в качестве объекта исследования авторы должны указать, соответствовали ли они международным и российским законодательным актам о юридических и этических принципах медико-биологических исследований такого рода. Не допускается использование фамилий, инициалов больных и номеров историй болезни. При описании экспериментов на животных необходимо указать, соответствовало ли содержание и использование лабораторных животных правилам, принятым в учреждении, рекомендациям национального совета по исследованиям, национальным законам.

Авторские права соблюдаются в соответствии с Гражданским кодексом Российской Федерации (ч. 4) и другими действующими нормативными документами. Авторы несут полную ответственность за содержание статей.

В редакцию JSMS авторы должны предоставить:

1) *электронную версию статьи*, подготовленную в соответствии с требованиями к оформлению статей, изложенными ниже;

2) *оригинал статьи* в печатном виде с указанием города, даты, фамилии с подписью каждого автора (на последней странице), визой «В печать» и подписью (на первой странице) заведующего кафедрой или иного должностного лица организации, на базе которой выполнено исследование.

Авторы предоставляют статьи в редакцию лично или по почте;

3) *согласие* на публикацию статьи в JSMS и обработку персональных данных авторов (заполняется каждым автором) (см. на сайте НГМУ: [www.ngmu.ru/cozo/mos](http://www.ngmu.ru/cozo/mos));

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. [www.ngmu.ru](http://www.ngmu.ru)); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

### ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также предоставляются сведения о каждом из авторов: фами-

лия, имя, отчество (полностью на русском языке и в транслитерации), ученые звания и ученая степень, должность, место работы, рабочий телефон и адрес электронной почты (e-mail). Сведения необходимы для обработки публикаций в базе данных Российского индекса научного цитирования и других системах цитирования. Аннотация, ключевые слова, информация об авторах и название учреждений должны быть также предоставлены на английском языке.

5. Таблицы помещаются в текст статьи. Таблицы должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они упоминаются в тексте (например, табл. 1, табл. 2 и т. д.).

6. Рисунки вставляются в текст статьи, а также предоставляются в виде отдельных пронумерованных файлов формата .jpg или .gif с разрешением не менее 300 dpi. Рисунки должны быть контрастными и четкими, буквы, цифры и символы на них должны быть различимы. Рисунками считаются графики, рентгенограммы, фотографии или любые другие графические объекты. Фотографии людей не должны быть узнаваемыми, либо к ним должно быть приложено письменное разрешение на их публикацию. Рисунки должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они впервые упоминаются в тексте — рис. 1, рис. 2 и т. д. Подписи размещаются в тексте под рисунками. В подписях к микрофотографиям указывается степень увеличения и способ окраски.

7. В тексте статьи используются следующие заголовки: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, список литературы.

8. Используются только стандартные общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не применяются сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому использованию этого сокращения в тексте.

9. Обязательно наличие списка литературы. Библиографические ссылки в тексте статьи даются арабскими цифрами в квадратных скобках, в полном соответствии с нумерацией списка литературы. Ссылки в тексте статьи должны даваться последовательно по возрастанию: [1]...[2]...[3]... и т. д. Развернутое описание источника в списке литературы предоставляется по ГОСТ 7.0.5-2008. Список литературы должен содержать публикации за последние 5 лет. В списке литературы все информационные источники перечисляются в порядке их цитирования.

10. Редакция JSMS берет на себя присвоение каждой публикуемой статье номера УДК и осуществление полного перевода статьи на английский язык.

11. Статьи, не соответствующие указанным редакцией требованиям, к опубликованию не принимаются.

## **ПОРЯДОК РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ, ПРИНИМАЕМЫХ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ**

1. Рукописи статей, поступивших в редакцию, направляются для рецензирования членам редакционного совета с целью их экспертной оценки на предмет соответствия требованиям JSMS и Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ.

Рецензенты уведомляются о том, что в целях обеспечения авторских и других неимущественных прав присланные рукописи не подлежат разглашению, копированию, распространению. Рецензирование проводится анонимно.

При отказе в направлении на рецензирование представленной автором рукописи редакция направляет автору мотивированный ответ в электронном виде.

Редакция журнала по письменному запросу направляет авторам рецензии на поступившие материалы в электронном виде. Авторы обязаны учесть замечания рецензентов и внести в статью соответствующие исправления или предоставить мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

Редакционная коллегия принимает решение о возможности публикации статьи или отклоняет её по результатам рецензирования.

Рецензии хранятся в редакции журнала в течение 5 лет с момента публикации.

2. Редакцией не допускаются к публикации:

— статьи, тематика которых не соответствует научному направлению журнала;

— статьи, авторы которых отказываются от технической доработки статей;

— статьи, авторы которых не внесли конструктивные замечания рецензента в текст статьи и не предоставили мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ. Редакция JSMS не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются.

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС 77-72398 выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций  
28 февраля 2018 г.

Journal of Siberian Medical Sciences является преемником журнала «Медицина и образование в Сибири», который был включен ВАК Минобрнауки России в Перечень рецензируемых научных изданий

Территория распространения: РФ, страны СНГ, зарубежные страны  
При перепечатке материалов из журнала Journal of Siberian Medical Sciences ссылка на источник — обязательна  
Ответственность за достоверность сведений в рекламе несет рекламодатель

Электронная версия (аннотированное содержание) доступна по адресам:  
<http://jsms.ngmu.ru>  
<https://elibrary.ru>

Выпускающий редактор: *В.Г. Кузнецова, Н.А. Лазарева*  
Корректурa: *Е.В. Егоров*  
Компьютерная верстка и дизайн: *О.В. Пустынникова, И.А. Тимошенко*  
Дизайн обложки: *Ю.В. Студеникина*  
Ответственный за перевод: *Т.Ф. Извекова*

Подписано в печать 20.03.2020. Формат 60 × 84/8  
Бумага Color Copy. Гарнитура Georgia.  
Усл. печ. л. 15,6. Тираж 1000 экз. Изд. 40 с.

Оригинал-макет изготовлен Издательско-полиграфическим центром НГМУ  
г. Новосибирск, ул. Залесского, 4  
E-mail: [sibmedizdat@mail.ru](mailto:sibmedizdat@mail.ru)  
Тел.: (383) 225-24-29

Отпечатано в типографии Издательско-полиграфического центра НГМУ  
г. Новосибирск, ул. Залесского, 4  
Тел.: (383) 225-24-29

ISSN 2542-1174



9 772542 117003