



JOURNAL
of SIBERIAN
MEDICAL
SCIENCES

Vol.6
2022

1

**OPEN
ACCESS**

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 6, № 1 (2022)

Выходит 4 раза в год
Издается с 2017 г.

Journal of Siberian Medical Sciences является преемником журнала «Медицина и образование в Сибири» (год издания 2006). Решением президиума ВАК РФ журнал включен в перечень периодических изданий, рекомендованных для публикации работ соискателей ученых степеней.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Регистрационное свидетельство ПИ № ФС 77-72398 от 28 февраля 2018 г.

Журнал индексируется в РИНЦ, зарегистрирован в CrossRef с 2018 г., все статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Редакция журнала соблюдает принципы международной организации «Комитет по издательской этике» (Committee On Publication Ethics — COPE).

Статьи, представленные к публикации в журнале, проходят независимое рецензирование и проверяются на оригинальность. При перепечатке материалов из журнала Journal of Siberian Medical Sciences ссылка на источник обязательна.

Журнал распространяется бесплатно. Территория распространения: РФ, страны СНГ, зарубежные страны. Электронная версия (аннотированное содержание) доступна по адресам: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Маринкин И.О., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой акушерства и гинекологии, ректор, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Поспелова Т.И., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, проректор по научной работе, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Кузнецова В.Г., д-р мед. наук, проф. кафедры инфекционных болезней, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Захарова К.Л., редактор Издательско-полиграфического центра, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Воевода М.И., д-р мед. наук, проф., директор Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск)

Громб С., д-р медицины, проф., руководитель департамента судебной медицины университета Сегален (Бордо, Франция)

Давидович И.М., д-р мед. наук, проф. кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии,

Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Жданов В.В., д-р мед. наук, проф., директор НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского Национального исследовательского медицинского центра РАН (Томск)

Локишин В.Н., д-р мед. наук, проф., академик НАН РК, президент Казахстанской ассоциации репродуктивной медицины, генеральный директор Международного клинического центра репродуктологии PERSONA (Казахстан, Алматы)

Пузырев В.П., д-р мед. наук, проф., академик РАН, научный руководитель Томского Национального исследовательского медицинского центра РАН, научный руководитель НИИ медицинской генетики, зав. кафедрой медицинской генетики Сибирского государственного медицинского университета (Томск)

Ружичка Т., д-р медицины, проф., руководитель департамента дерматологии и аллергологии Мюнхенского университета имени Людвига и Максимилиана (Мюнхен, Германия)

Семенов В.М., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней, Витебский государственный медицинский университет (Республика Беларусь, Витебск)

Федерико М., д-р медицины, проф., руководитель кафедры медицинской онкологии, отдел диагностической медицины, клинического и общественного здравоохранения, Университет Модены и Реждо-Эмилии (Италия, Модена)

Шкурупий В.А., д-р мед. наук, проф., академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск)

УЧРЕДИТЕЛЬ

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

АДРЕС ИЗДАТЕЛЯ И РЕДАКЦИИ

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

3.1. КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Абрамович С.Г., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой физиотерапии и курортологии, Иркутская государственная медицинская академия постдипломного образования — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Иркутск)

Аитов К.А., д-р мед. наук, проф. кафедры инфекционных болезней, Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

Биттер И., д-р медицины, проф. департамента психиатрии и психотерапии, Университет Земмельвейса (Венгрия, Будапешт)

Иванова Л.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой эндокринологии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар)

Кулешов В.М., д-р мед. наук, проф. кафедры акушерства и гинекологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Курушина О.В., д-р мед. наук, проф., заведующий кафедрой неврологии, Волгоградский государственный медицинский университет (Волгоград)

Лукашова Л.В., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой инфекционных болезней, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Мойсак Г.И., канд. мед. наук, врач-невролог, Федеральный центр нейрохирургии (Новосибирск)

Молчанова Е.Е., д-р мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии, Амурская государственная медицинская академия (Благовещенск)

Момот А.П., д-р мед. наук, проф. кафедры сестринского дела, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Мордык А.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней, Омский государственный медицинский университет (Омск)

Нильсон П., д-р медицины, проф. департамента клинических наук, Лундский университет (Швеция, Лунд)

Охлопков В.А., д-р мед. наук, проф., ректор, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (Москва)

Сагитова Г.Р., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой госпитальной педиатрии с курсом последипломного образования, Астраханский государственный медицинский университет (Астрахань)

Селятицкая В.Г., д-р биол. наук, проф., главный научный сотрудник лаборатории эндокринологии, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск)

Семке А.В., д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной и лечебной работе, НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра РАН (Томск)

Сенькевич О.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой педиатрии, неонатологии и перинатологии с курсом неотложной медицины, Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Трофименко И.Н., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой клинической аллергологии и пульмонологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Иркутск)

Федоров И.А., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой факультетской педиатрии им. Н.С. Тюриной, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Филинок О.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фтизиатрии и пульмонологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Хардикова С.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой дерматовенерологии и косметологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Хрянин А.А., д-р мед. наук, проф. кафедры дерматологии и косметологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Цхай В.Б., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой перинатологии, акушерства и гинекологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Шапошник И.И., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Яхонтов Д.А., д-р мед. наук, проф. кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

3.3. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Алябьева Ф.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой судебной медицины, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Казачков Е.Л., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Логвинов С.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Надеев А.П., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологической анатомии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Петрек М., д-р медицины, проф., руководитель департамента патологической физиологии Университета Полацкого (Чехия, Оломоуц)

Сазонова Е.Н., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии, проректор по научной работе, Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Шевела А.И., д-р мед. наук, проф., заместитель директора по научной работе, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

3.4. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Белоусов М.В., д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой фармацевтического анализа, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Жариков А.Ю., д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии им. проф. В.М. Брюханова, проректор по научной работе и инновациям, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Каракулова Е.В., д-р фарм. наук, проф. кафедры управления и экономики фармации, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Лаврентьева Л.И., д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой управления и экономики фармации, декан фармацевтического факультета, Ярославский государственный медицинский университет (Ярославль)

Мадонов П.Г., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Фоминых С.Г., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии, Омский государственный медицинский университет (Омск)

Шертаева К.Д., д-р фарм. наук, проф., зав. кафедрой организации и управления фармацевтического дела, Южно-Казахстанская медицинская академия (Шымкент, Казахстан)

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Vol. 6, No. 1 (2022)

Quarterly
Founded in 2017

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is a successor to the “Medicine and Education in Siberia” online media that has been published since 2006. By the decision of the Presidium of the Higher Attestation Commission of the Russian Federation, the journal is included in the List of periodicals recommended for the publication of works by applicants for scientific degrees.

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor). Registration certificate PI No. FS 77-72398 dated Febr. 28, 2018.

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is indexed in the RSCI, registered in CrossRef since 2018, all articles are indexed using a DOI digital identifier.

The editors of the journal observe the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE).

Articles submitted for publication in the journal are independently reviewed and checked for originality. When reprinting materials from the Journal of Siberian Medical Sciences, reference to the source is required.

The magazine is distributed free of charge. Distribution area: Russian Federation, CIS countries, foreign countries. The electronic version (annotated content) is available at: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

EDITORIAL COUNCIL

CHAIRMAN

Marinkin I.O., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Rector, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

EDITOR-IN-CHIEF

Pospelova T.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Vice-Rector for Research, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Kuznetsova V.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

EXECUTIVE SECRETARY

Zakharova X.L., editor of the Publishing and Printing Center, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Voevoda M.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Head, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

Gromb S., MD, PhD, Prof., Head of the Department of Forensic Medicine, Bordeaux Segalen University (France, Bordeaux)

Davidovich I.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Faculty and Polyclinic Therapy with a Course of Endocrinology, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Zhdanov V.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head, Scientific Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (RAS) (Tomsk)

Lokshin V.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, President of the Kazakhstan Association of Reproductive Medicine, General Director of International Clinical Center for Reproductology PER-SONA (Kazakhstan, Almaty)

Puzyrev V.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the Scientific Research Institute of Medical Genetics, Head of the Department of Medical Genetics (Tomsk)

Ruzicka Thomas, MD, PhD, Prof., Head of Department of Dermatology and Allergy, Ludwig-Maximilian University of Munich (Germany, Munich)

Semyonov V.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Department of Infectious Diseases, Vitebsk State Medical University (Republic of Belarus)

Federico M., MD, PhD, Prof., Head of the Department of Medical Oncology, Department of Diagnostic Medicine, Clinical and Public Health Care of the University of Modena and Reggio Emilia (Italy, Modena)

Shkurupiy V.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Supervisor of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

FOUNDER

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

EDITORIAL OFFICE AND PUBLISHER ADDRESS

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

3.1. CLINICAL MEDICINE

Abramovich S.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Physiotherapy and Balneology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Irkutsk)

Aitov K.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University (Irkutsk)

Bitter Istvan, MD, PhD, Prof., Chair Department of Psychiatry and Psychotherapy, Semmelweis University (Hungary, Budapest)

Ivanova L.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Endocrinology, Kuban State Medical University (Krasnodar)

Kuleshov V.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Kurushina O.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology, Volgograd State Medical University (Volgograd)

Lukashova L.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Infectious Diseases, Siberian State Medical University (Tomsk)

Moysak G.I., MD, Cand. Sci. (Med.), Neurologist, Federal Center for Neurosurgery (Novosibirsk)

Molchanova E.E., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Department of Faculty and Polyclinic Therapy, Amur State Medical Academy (Blagoveshchensk)

Momot A.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Nursing, Altai State Medical University (Barnaul)

Mordyk A.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Phthisiology, Pulmonology and Infectious Diseases, Omsk State Medical University (Omsk)

Nilsson Peter M., MD, Prof., Department of Clinical Sciences, Lund University (Lund, Sweden)

Okhlopkov V.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rector of the Federal Research and Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitation (Moscow)

Sagitova G.R., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Hospital Pediatrics with a Postgraduate Education Course, Astrakhan State Medical University (Astrakhan)

Selyatitskaya V.G., MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Chief Researcher, Laboratory of Endocrinology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

Semke A.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Scientific and Medical Work, “Tomsk National Research Medical Center” of the Russian Academy of Sciences (Tomsk NRMCC) – a structural unit of the Research Institute of Mental Health (Tomsk)

Senkevich O.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatology with the Course of Emergency Medicine, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Trofimenko I.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Clinical Allergology and Pulmonology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Irkutsk)

Fedorov I.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Faculty Pediatrics named after N.S. Tyurina, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Filinyuk O.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Phthisiology and Pulmonology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Kharkikova S.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Khryanin A.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Tskhay V.B., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Perinatology, Obstetrics and Gynecology, Krasnoyarsk State Medical University named after professor V.F. Voyno-Yasenetsky (Krasnoyarsk)

Shaposhnik I.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Yahontov D.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

3.3. MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES

Alyabev F.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Forensic Medicine, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky (Krasnoyarsk)

Kazachkov E.L., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine named after

prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Logvinov S.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Vice Rector for Study, Head of the Department of Histology, Fetology and Cytology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Nadeev A.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Petrek Martin, MD, PhD, Prof., Head of the Department of Pathological Physiology, Palacký University of Olomouc (Czech Republic, Olomouc)

Sazonova E.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Normal and Pathological Physiology, Vice-Rector for Research, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Shevela A.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Research, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk)

3.4. PHARMACEUTICAL SCIENCES

Belousov M.V., MD, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University (Tomsk)

Zharikov A.Yu., Dr. Sci. (Biol.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmacology named after professor V.M. Bryukhanov, Vice-Rector for Research and Innovation, Altai State Medical University (Barnaul)

Karakulova E.V., Dr. Sci. (Pharm.), Prof. of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Siberian State Medical University (Tomsk)

Laurenteva L.I., Dr. Sci. (Pharm.), Associate Prof., Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Dean of the Faculty of Pharmacy, Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl)

Madonov P.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Fominykh S.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology, Omsk State Medical University (Omsk)

Shertaeva K.D., Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Head of the Department of Organization and Management of Pharmaceutical Affairs, South Kazakhstan Medical Academy (Kazakhstan, Shymkent)

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Хрянин А.А., Маринкин И.О., Шпикс Т.А., Русских М.В., Черникова Е.В.** Коммуникативные и поведенческие аспекты проблемы ВИЧ-инфекции и ИППП: результаты опроса студенческой молодежи в Новосибирске 7
- Казачков Е.Л., Семёнов Ю.А., Веряскина Ю.А., Казачкова Э.А., Чижевская А.В.** Профиль экспрессии ряда микроРНК в плаценте при своевременных и преждевременных родах 22
- Подгурская В.В., Лукаша Е.А., Савченко И.А., Корнеева И.Н., Иванова Е.В., Калининко А.М.** Изучение химического состава надземной части щавеля приморского (*Rumex maritimus* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 38
- Куваева Е.В., Ладутько Ю.М., Колесник Д.А., Левшукова П.О., Федорова Е.В.** Синтез и определение активности нового производного гидроксиксопиримидина — потенциального объекта для изготовления противовоспалительного геля 46
- Мудров В.А., Якимова А.В.** Технология прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода 56
- Егорова Е.А., Шейхмамбетова Л.Н., Егорова С.Н., Бекирова Э.Ю.** Анализ ценовых характеристик монокомпонентных пероральных сахароснижающих средств на фармацевтическом рынке Республики Крым 67
- Елясин П.А., Залавина С.В., Машак А.Н., Равилова Ю.Р., Машак С.В., Айдагулова С.В.** Тканевый и ультраструктурный анализ печени крыс препубертатного возраста при субтоксическом воздействии кадмия и свинца 80
- Ставский Е.А., Теплякова Т.В., Андреева И.С., Давыдова Е.С., Ставская А.А., Потешкина А.Л.** Экспериментальная оценка лечебных свойств мази на основе меланинов из природного сырья и глубинной культуры чаги. 93
- Мотов В.С., Быков В.В., Быкова А.В., Венгеровский А.И.** Противовоспалительное и анальгетическое действие ингибитора индуцируемой синтазы оксида азота в эксперименте 106
- Костыро В.В., Костыро Я.А.** Разработка гидрофильного геля на основе сульфатированного арабиногалактана. 116
- Джупаров А.С., Джупарова И.А., Ибрагимова Г.Я.** Анализ системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области 128

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

- Khryanin A.A., Marinkin I.O., Shpiks T.A., Russkikh M.V., Chernikova E.V.** Communicative and behavioral aspects of the problem of HIV infection and STIs: results of a survey of students in Novosibirsk 7
- Kazachkov E.L., Semenov Yu.A., Veryaskina Yu.A., Kazachkova E.A., Chizhovskaya A.V.** The expression profile of a number of miRNAs in the placenta in timely and premature birth 22
- Podgurskaya V.V., Luksha E.A., Savchenko I.A., Korneeva I.N., Ivanova E.V., Kalinichenko A.M.** The study of the chemical composition of the aerial part of golden dock (*Rumex maritimus* L.) by high-performance liquid chromatography 38
- Kuvaeva E.V., Ladutko Yu.M., Kolesnik D.A., Levshukova P.O., Fedorova E.V.** Synthesis and determination of the activity of a new derivative of hydroxyoxopyrimidine, a potential object for the manufacture of anti-inflammatory gel. 47
- Mudrov V.A., Yakimova A.V.** Technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation. 56
- Egorova E.A., Sheikhmambetova L.N., Egorova S.N., Bekirova E.Yu.** The analysis of price characteristics of monocomponent oral hypoglycemic drugs in the pharmaceutical market of the Republic of Crimea 67
- Elyasin P.A., Zalavina S.V., Mashak A.N., Ravilova Yu.R., Mashak S.V., Aidagulova S.V.** Tissue and ultrastructural analysis of the liver of prepubertal rats under subtoxic exposure to cadmium and lead . . . 80
- Stavsky E.A., Teplyakova T.V., Andreeva I.S., Davydova E.S., Stavskaya A.A., Poteshkina A.I.** Experimental evaluation of therapeutic properties of ointment based on melanins from natural raw material and a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus*). 94
- Motov V.S., Bykov V.V., Bykova A.V., Vengerovskii A.I.** Anti-inflammatory and analgesic activity of an inducible NO synthase inhibitor in an experiment 106
- Kostyro V.V., Kostyro Ya.A.** Development of a hydrophilic gel based on sulfated arabinogalactan 116
- Dzhuparov A.S., Dzhuparova I.A., Ibragimova G.Ya.** Analysis of the pharmaceutical care system of the Novosibirsk region community 129

Коммуникативные и поведенческие аспекты проблемы ВИЧ-инфекции и ИППП: результаты опроса студенческой молодежи в Новосибирске

А.А. Хрянин, И.О. Маринкин, Т.А. Шпикс, М.В. Русских, Е.В. Черникова

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . Продолжительное время инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), и ВИЧ-инфекция рассматривались независимо друг от друга. Однако в настоящее время эти инфекции, помимо схожего механизма распространения и социальной обусловленности, неразрывно связаны с формами сексуального поведения. Молодые люди являются социально-активной частью населения, из-за чего представляют собой группу риска по заболеваемости и распространению ИППП и ВИЧ-инфекции. Вследствие этого анализ осведомленности молодежи о ВИЧ-инфекции и ИППП представляет собой особую важность.

Ц е л ь . Оценить особенности полового поведения и информированность молодежи в отношении ИППП и ВИЧ-инфекции, а также изучить отношение и степень готовности к оказанию помощи ВИЧ-инфицированным пациентам среди студентов медицинского университета.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Использованы данные социологического опроса молодежи, проведенного в период 2016–2020 гг. среди студентов высших (университеты: медицинский, педагогический и путей сообщения) и среднеспециальных (колледж парикмахерского искусства, факультет среднего профессионального образования аграрного университета) образовательных учреждений г. Новосибирска.

Р е з у л ь т а т ы . Половое поведение участвующих в исследовании студентов высших и среднеспециальных образовательных учреждений характеризуется как рискованное. Информированность и знания об ИППП и ВИЧ-инфекции среди студентов в Новосибирске представляются недостаточными. Большинство студентов (69 %) медицинского вуза испытывают страх заражения ВИЧ-инфекцией при оказании медицинской помощи ВИЧ-инфицированным пациентам. Уровень профессиональной коммуникативной толерантности будущих врачей оценивается как высокий (80 %).

З а к л ю ч е н и е . Среди молодых людей отмечается низкая информированность в отношении сексуального здоровья. Выявленное в процессе опроса у студентов медицинского вуза незнание правовых аспектов оказания помощи ВИЧ-инфицированным больным требует более детального изучения данных вопросов во время подготовки будущих врачей к профессиональной деятельности.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, ИППП, профилактика, студенты, информированность, страх заражения, коммуникативная толерантность, рискованное половое поведение.

Образец цитирования: Хрянин А.А., Маринкин И.О., Шпикс Т.А., Русских М.В., Черникова Е.В. Коммуникативные и поведенческие аспекты проблемы ВИЧ-инфекции и ИППП: результаты опроса студенческой молодежи в Новосибирске // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):7–21. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-7-21

Поступила в редакцию 02.12.2021
Прошла рецензирование 20.12.2021
Принята к публикации 11.01.2022

Автор, ответственный за переписку
Хрянин Алексей Алексеевич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: khryanin@mail.ru

Received 02.12.2021
Revised 20.12.2021
Accepted 11.01.2022

Corresponding author
Alexey A. Khryanin: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: khryanin@mail.ru

Communicative and behavioral aspects of the problem of HIV infection and STIs: results of a survey of students in Novosibirsk

A.A. Khryanin, I.O. Marinkin, T.A. Shpiks, M.V. Russkikh, E.V. Chernikova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. For a long time, sexually transmitted infections (STIs) and HIV infection were considered independently of each other. However, at present, these infections, in addition to similar mechanisms of spread and social causation, are inextricably linked with forms of sexual behavior. Young people are a socially active part of the population, which makes them a risk group for the incidence and spread of STIs and HIV infection. Consequently, analyzing the young people's awareness of HIV and STIs is of particular importance.

Aim. To assess the characteristics of sexual behavior and the awareness of young people regarding STIs and HIV infection, as well as to study the attitude and degree of readiness to provide medical assistance to HIV-infected patients among students of a medical university.

Materials and Methods. We used the data of a sociological survey of young people, performed in the period 2016–2020 among students of higher (medical, pedagogical and transport universities) and secondary specialized educational institutions (College of Hairdressing Art, Faculty of secondary vocational education of the Agrarian University) in Novosibirsk.

Results. The sexual behavior of students of higher and secondary specialized (vocational) educational institutions is characterized as risky. The awareness and knowledge about STIs and HIV infection among students in Novosibirsk seems insufficient. The majority of students (69%) of the medical university experiences fear of contracting HIV while providing medical assistance to HIV-infected patients. The level of professional communicative tolerance of future doctors is assessed as high (80%).

Conclusion. There is a low awareness of sexual health among young people. The lack of knowledge of the legal aspects of providing medical care to HIV-infected patients revealed in the course of the survey among students of the medical university requires a more detailed study of these issues during the training of future doctors for professional activities.

Keywords: HIV infection, STIs, prevention, students, awareness, fear of infection, communicative tolerance, risky sexual behavior.

Citation example: Khryanin A.A., Marinkin I.O., Shpiks T.A., Russkikh M.V., Chernikova E.V. Communicative and behavioral aspects of the problem of HIV infection and STIs: results of a survey of students in Novosibirsk. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):7–21. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-7-21

ВВЕДЕНИЕ

Продолжительное время инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), и ВИЧ-инфекция рассматривались независимо друг от друга. Однако в настоящее время эти инфекции, помимо схожего механизма распространения и социальной обусловленности, неразрывно связаны с формами сексуального поведения [1]. Основным путем передачи ВИЧ-инфекции является гетеросексуальный половой контакт: в 2020 г. в России половым путем инфицировались 65,0 % от числа всех инфицированных. По данным официальной статистики (на 30 июня 2021 г.) общее количество зарегистрированных ВИЧ-инфицированных в России составило 1 528 356 чел. [2]. В Сибирском федеральном округе эпидемиологическая обстановка по ВИЧ-инфекции также остается неблагоприятной. В Новосибирской области эпи-

INTRODUCTION

For a long time, sexually transmitted infections (STIs) and HIV infection were considered independently of each other. However, at present, these infections, in addition to a similar mechanism of spread and social causation, are inextricably linked with forms of sexual behavior [1]. The main route of HIV transmission is heterosexual intercourse: in 2020 in Russia 65.0% of all infected people were sexually infected. According to the official statistics (data of June 30, 2021), the total number of registered HIV-infected people in Russia was 1 528 356 [2]. In the Siberian Federal District the epidemiological situation with regard to HIV infection also remains unfavorable. In the Novosibirsk region, the epidemic rise in the morbidity began in 2007 when the incidence was 46.4 per 100 thousand population, and in 2019 it was already 124.9 per 100 thousand

демический подъем заболеваемости начался с 2007 г., когда заболеваемость составляла 46.4 на 100 тыс. населения, а в 2019 г. – уже 124.9 на 100 тыс. населения [3]. Молодые люди являются социально-активной частью населения, из-за чего представляют собой группу риска по заболеваемости и распространению ИППП и ВИЧ-инфекции. Вследствие этого анализ осведомленности молодежи о ВИЧ-инфекции и ИППП представляет собой особую важность.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить особенности полового поведения и информированность молодежи в отношении ИППП и ВИЧ-инфекции, а также изучить отношение и степень готовности к оказанию помощи ВИЧ-инфицированным пациентам среди студентов медицинского университета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованы данные социологического опроса молодежи, проведенного в период 2016–2020 гг. Метод исследования – раздаточное анкетирование на территории г. Новосибирска среди студентов медицинского, технического и гуманитарного вузов, а также двух учреждений среднего профессионального образования. С целью оценки уровня информированности по вопросам профилактики и рискованного полового поведения в отношении ВИЧ-инфекции и ИППП была использована анкета, состоящая из 23 вопросов, разработанная сотрудниками кафедры дерматовенерологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова и Центра социологии девиантности и социального контроля Института социологии РАН, адаптированная авторами. Также оценивалось отношение студентов к самим ВИЧ-положительным людям, для этого была использована адаптированная анкета, созданная на основе типового опросника ЮНЭЙДС (Объединенная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИД). Для выявления психологических особенностей студентов, которые могут оказывать влияние на поведение, склонность к риску, отношение к болезни, была применена методика оценки уровня коммуникативной толерантности В.В. Бойко. Анализ распределения ответов осуществлялся по всей совокупности опрошенных, представительным соответствующим объемом по каждой анкете. Статистический анализ проведен с использованием программ Microsoft Excel и SPSS. Используются критерии хи-квадрат, стандартные статистические методы.

population [3]. Young people are a socially active part of the population which is why they represent a risk group for the incidence and spread of STIs and HIV infection. Consequently, analyzing the awareness of young people about HIV and STIs is of particular importance.

AIM OF THE RESEARCH

To assess the characteristics of sexual behavior and the awareness of young people in relation to STIs and HIV infection, as well as to study the attitude and degree of readiness to provide care to HIV-infected patients among students of a medical university.

MATERIALS AND METHODS

The data of a sociological survey of young people, performed in the period 2016–2020, were used. The research method was a handout survey in Novosibirsk among students of medical, technical and humanitarian universities, as well as two institutions of secondary vocational education. In order to assess the level of awareness on prevention and risky sexual behavior in relation to HIV infection and STIs, we used the questionnaire, consisting of 23 questions, developed by employees of the Dermatovenereology Department of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University and the Center for the Sociology of Deviance and Social Control of the Institute of Sociology of the Russian Academy of Sciences. The questionnaire was adapted by the authors. The attitude of students towards HIV-positive people themselves was also assessed; for this, an adapted questionnaire was used, which was created on the basis of the UNAIDS questionnaire (Joint United Nations Program on HIV/AIDS). To identify the psychological characteristics of students that can influence behavior, propensity to take risks, attitude to illness, the V.V. Boyko's method of assessing the level of communicative tolerance was applied. The analysis of the distribution of answers was carried out for the entire cohort of the respondents, in a representative corresponding volume for each questionnaire. Statistical analysis was performed using Microsoft Excel and SPSS programs. Chi-squared test and standard statistical methods were used.

RESULTS AND DISCUSSION

The study included a survey based on three questionnaires: “Knowledge and awareness of Novosibirsk students about HIV/STIs, and peculiarities of their sexual behavior” (1619 participants), “Attitude of medical students to HIV-infected people” (1092 par-

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование включало анкетирование по трем анкетам: «Знания и информированность студентов Новосибирска о ВИЧ/ИППП и особенности их полового поведения» (1619 участников), «Отношение студентов-медиков к ВИЧ-инфицированным» (1092 участника), «Оценка общей коммуникативной толерантности студентов по методике В.В. Бойко» (1048 участников). Всего в исследовании принимало участие 3759 студентов образовательных учреждений г. Новосибирска.

Первое анкетирование «Знания и информированность студентов Новосибирска о ВИЧ/ИППП и особенности их полового поведения» было посвящено оценке информированности молодежи в отношении ВИЧ-инфекции/ИППП. В опросе приняли участие 1619 студентов (1057 девушек и 562 юноши), из них 1076 чел. – учащиеся Новосибирского государственного медицинского университета (НГМУ), 223 чел. – учащиеся Сибирского государственного университета путей сообщения (СГУПС), 128 чел. – студенты Новосибирского государственного педагогического университета (НГПУ), 103 чел. – учащиеся Новосибирского колледжа парикмахерского искусства (НКПИ) и 89 чел. – студенты Новосибирского государственного аграрного университета (НГАУ), факультета среднего профессионального образования (ФСПО) (табл. 1).

Возрастной диапазон участников опроса составил от 15 до 38 лет (средний возраст 20.2 года). Опросник содержал две части. Первая часть опросника была посвящена информированности молодых людей о путях передачи ВИЧ-инфекции и способах ее профилактики. Согласно результатам опроса, большинство обучающихся (76 %) всех образовательных учреждений отдают предпочтение получению информацию о поло-

participants), “Assessment of the general communicative tolerance of students according to the methodology of V.V. Boyko” (1048 participants). In total, 3759 students from educational institutions in Novosibirsk took part in the study.

The first questionnaire, “Knowledge and awareness of Novosibirsk students about HIV/STIs, and peculiarities of their sexual behavior” was devoted to assessing the awareness of young people in relation to HIV/STIs. The survey involved 1619 students (1057 girls and 562 boys), of which 1076 persons were students of the Novosibirsk State Medical University (NSMU), 223 were students of the Siberian Transport University (STU), 128 were students of the Novosibirsk State Pedagogical University (NSPU), 103 were students of the Novosibirsk College of Hairdressing Art (NCHA) and 89 persons were students of the Novosibirsk State Agrarian University (NSAU), Faculty of Secondary Vocational Education (FSVE) (Table 1).

The age range of the survey participants was from 15 to 38 years old (the average age being 20.2 years). The questionnaire contained two parts. The first part was devoted to the awareness of young people about the ways of HIV transmission and preventives. According to the survey results, the majority of students (76%) of all educational institutions give preference to receiving information about sexuality from the Internet, as well as in the course of discussing issues of concern with friends (67%) (Fig. 1).

When examining the knowledge about the ways of transmission of HIV infection, as one of the most dangerous STIs, it was found that the overwhelming majority of the respondents answered the questions posed correctly. Significant differences between the groups of 4th year students concerned two questions of the questionnaire (Table 2). Thus, students of STU

Таблица 1. Распределение респондентов по месту учебы, n (%)
Table 1. Distribution of respondents by place of study, n (%)

Респонденты Respondents	НГМУ / NSMU		СГУПС (4-й курс) STU (4th year)	НГПУ (4-й курс) NSPU (4th year)	НКПИ (1-й курс) NCHA (1st year)	НГАУ (ФСПО) (1-й курс) NSAU (FSVE) (1st year)
	1-й курс 1st year	4-й курс 4th year				
Девушки / Girls	134 (8.0)	593 (37.0)	81 (5.0)	90 (5.5)	97 (6)	62 (4.0)
Юноши / Boys	68 (4.0)	281 (17.0)	142 (9.0)	38 (2.0)	6 (0.5)	27 (2.0)
<i>Итого / Total</i>		1076 (66.0)	223 (14.0)	128 (7.5)	103 (6.5)	89 (6.0)

П р и м е ч а н и е. НГМУ – Новосибирский государственный медицинский университет, СГУПС – Сибирский государственный университет путей сообщения, НГПУ – Новосибирский государственный педагогический университет, НКПИ – Новосибирский колледж парикмахерского искусства, НГАУ (ФСПО) – Новосибирский государственный аграрный университет (факультет среднего профессионального образования).

Notes. NSMU – Novosibirsk State Medical University, STU – Siberian Transport University, NSPU – Novosibirsk State Pedagogical University, NCHA – Novosibirsk College of Hairdressing Art, NSAU – Novosibirsk State Agrarian University (Faculty of Secondary Vocational Education).

вой жизни из сети Интернет, а также в ходе обсуждения волнующих вопросов с друзьями (67 %) (рис. 1).

При изучении знаний о путях передачи ВИЧ-инфекции, как одной из наиболее опасных ИППП, было установлено, что подавляющее большинство опрошиваемых верно отвечали на поставленные вопросы. Достоверные различия между группами студентов 4-го курса касались двух вопросов анкеты (табл. 2). Так, студенты СГУПС и НГПУ, в отличие от студентов медицинского университета, чаще полагали, что ВИЧ-инфекция может передаваться через укусы насекомых ($p < 0.01$) и при кормлении грудью ($p < 0.01$).

Сравнительный анализ результатов анкетирования студентов первых курсов выявил, что студенты НКПИ ($p < 0.01$) лучше осведомлены о невозможности передачи ВИЧ-инфекции через укусы насекомых, чем студенты НГМУ и НГАУ (ФСПО) (табл. 3).

Результаты анкетирования демонстрируют, что большинство опрошенных (87–97 %) расценивали барьерный метод защиты (презерватив) как способ профилактики ВИЧ-инфекции и ИППП. Барьерный метод является надежным и эффективным способом защиты от нежелательной беременности и ИППП, а также одним из самых доступных методов контрацепции. Однако около 5 % студентов имели ложные представления о защите от инфицирования, считая комбинированные оральные контрацептивы, внутриматочную спираль, прерванный половой акт и гормональное кольцо средствами защиты не только от беременности, но и от ИППП.

and NSPU, in contrast to the medical university students, more often believed that HIV infection could be transmitted through insect bites ($p < 0.01$) and breastfeeding ($p < 0.01$).

A comparative analysis of the results of the questionnaire among first-year students revealed that NCHA students ($p < 0.01$) are better aware of the impossibility of HIV transmission through insect bites than students of NSMU and NSAU (Table 3).

The results of the questionnaire show that the majority of the respondents (87–97%) regarded the barrier method of protection (condom) as a way to prevent HIV infection and STIs. The barrier method is a reliable and effective method of protection against unwanted pregnancies and STIs, and one of the most affordable methods of contraception. However, about 5% of students had misconceptions about protection against infection, considering combined oral contraceptives, an intrauterine device, withdrawal and a contraceptive vaginal ring as means of protection not only against pregnancy, but also against STIs.

One of the key questions of the survey was the question on satisfaction with the promotion of STIs/HIV prevention in Novosibirsk, since the epidemiological situation remains unfavorable. Only a third of the students surveyed believed that this problem was covered sufficiently.

Questions about risky sexual behavior were touched in the second part of the questionnaire. It was found that the average age of the sexual debut was 17.3 ± 1.6 years. Besides, at the moment of the survey, 72.0% of the respondents (1169 persons) had already had their first sexual intercourse, where girls

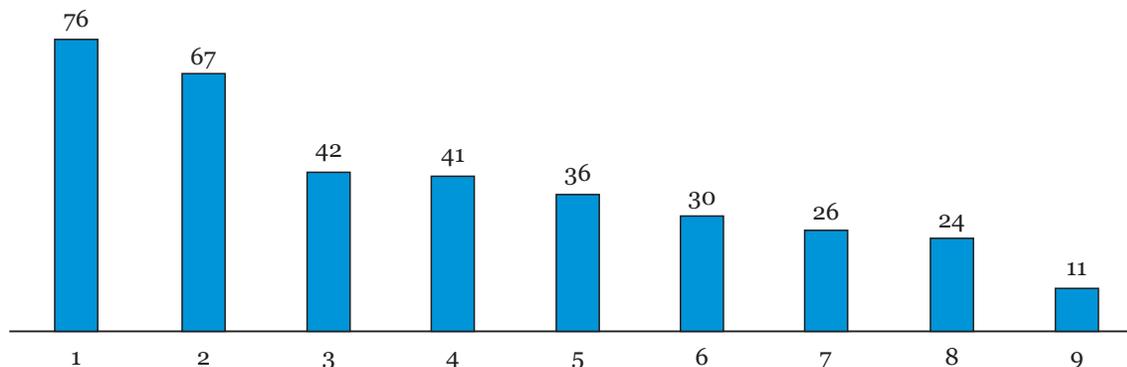


Рис. 1. Структура (%) источников получения информации о половом поведении (1 – Интернет, 2 – беседы с друзьями, 3 – беседы с половыми партнерами, 4 – медицинские учреждения, 5 – беседы с родителями, 6 – СМИ (телепередачи, радио), 7 – специальная литература, 8 – статьи в газетах и журналах, 9 – беседы с другими близкими)

Fig. 1. Structure (%) of sources of information about sexual behavior (1 – Internet, 2 – conversations with friends, 3 – conversations with sexual partners, 4 – medical institutions, 5 – conversations with parents, 6 – mass media (TV broadcasts, radio), 7 – professional literature, 8 – articles in newspapers and magazines, 9 – conversations with other loved ones)

Таблица 2. Осведомленность студентов 4-го курса НГМУ, СГУПС и НГПУ о путях передачи ВИЧ-инфекции, % правильных ответов**Table 2.** Awareness of 4th year students of NSMU, STU and NSPU about the ways of HIV transmission, % of correct answers

№ п/п No.	Путь передачи ВИЧ-инфекции Way of HIV transmission	Верный ответ Correct answer	НГМУ NSMU	СГУПС STU	НГПУ NSPU	p
1	Через поцелуй By kissing	Нет / No	87.0	87.0	92.0	0.437
2	Делая татуировку Getting a tattoo	Да / Yes	90.0	87.0	89.0	0.793
3	Через рукопожатие By handshaking	Нет / No	98.0	97.0	99.0	0.601
4	Через сидение туалета Through the toilet seat	Нет / No	95.0	90.0	89.0	0.272
5	Через укусы комаров Through mosquito bites	Нет / No	89.0	73.0	69.0	0.002
6	При половом контакте During sexual intercourse	Да / Yes	99.0	99.0	99.0	1.000
7	Использование общего шприца при введении наркотиков Sharing a syringe when injecting drugs	Да / Yes	98.0	97.0	98.0	1.000
8	При кормлении грудью In breastfeeding	Да / Yes	66.0	40.0	46.0	0.001
9	При орально-генитальных контактах With oral-genital contact	Да / Yes	63.0	61.0	56.0	0.582

Примечание. НГМУ – Новосибирский государственный медицинский университет, СГУПС – Сибирский государственный университет путей сообщения, НГПУ – Новосибирский государственный педагогический университет.

Notes. NSMU – Novosibirsk State Medical University, STU – Siberian Transport University, NSPU – Novosibirsk State Pedagogical University.

Одним из ключевых вопросов анкетирования был вопрос, посвященный удовлетворенности пропагандой профилактики ИППП/ВИЧ-инфекции в г. Новосибирске, так как эпидемиологическая обстановка остается неблагоприятной. Лишь треть опрошенных студентов считала, что данная проблема освещается достаточно.

Вопросы о рискованном сексуальном поведении затрагивались во второй части анкеты. В ходе проведенного анкетирования установлено, что средний возраст начала половой жизни – 17.3 ± 1.6 года. При этом на момент опроса 72.0 % опрошенных (1169 чел.) уже вступали в первый сексуальный контакт, из них девушек – 59.0 % (694 чел.), юношей – 41.0 % (475 чел.).

Мотивы вступления в половую связь различаются у юношей и девушек. Любовь являлась главной причиной начала половой жизни у девушек (81 %), тогда как у юношей это было половое влечение (49 %). Помимо этого, юноши в большем количестве случаев склонны вступать в интимную связь под воздействием алкогольного опьянения (6 %), среди девушек такой показатель равен 2.4 %. Важно обратить внимание на то, что

were 59.0% (694 persons), and boys – 41.0% (475 persons).

The motives for having sexual intercourse differ among boys and girls. Love was the main reason for the sexual debut in girls (81%), while in boys it was sexual desire (49%). In addition, young men in a greater number of cases are inclined to enter into an intimate relationship under the influence of alcoholic intoxication (6%), among girls this indicator is 2.4%. It is important to pay attention to the fact that 0.8% of boys and 1.2% of girls admitted that they had been subjected to violence.

The presence of a steady sexual partner was indicated by 67% of the surveyed students. Over the past 3 months, 9% of respondents had 2 or more sexual partners. In addition, the respondents who were sexually active at the time of the survey were asked a question about previous STIs. In the course of analyzing the results of the survey, it was possible to establish that 6% of the respondents had already suffered from one of the STIs (syphilis, trichomoniasis, gonorrhea, chlamydia, mycoplasmosis/ureaplasmosis).

The propensity for risky sexual behavior was observed in both boys and girls. Thus, 10% of girls

Таблица 3. Осведомленность студентов 1-го курса НГМУ, НКПИ и НГАУ (ФСПО) о путях передачи ВИЧ-инфекции, % правильных ответов**Table 3.** Awareness of 1st year students of NSMU, NCHA and NSAU (FSVE) about the ways of HIV transmission, % of correct answers

№ п/п No.	Путь передачи ВИЧ-инфекции Way of HIV transmission	Верный ответ Correct answer	НГМУ NSMU	НКПИ NCHA	НГАУ (ФСПО) NSAU (FSVE)	P
1	Через поцелуи By kissing	Нет / No	85.0	91.0	88.0	0.737
2	Делая татуировку Getting a tattoo	Да / Yes	85.0	91.0	79.0	0.060
3	Через рукопожатия By handshaking	Нет / No	99.0	99.0	97.0	0.444
4	Через сидение туалета Through the toilet seat	Нет / No	94.0	90.0	88.0	0.332
5	Через укусы комаров Through mosquito bites	Нет / No	78.0	86.0	52.0	0.001
6	При половом контакте During sexual intercourse	Да / Yes	98.0	99.0	99.0	0.777
7	Использование общего шприца при введении наркотиков Sharing a syringe when injecting drugs	Да / Yes	97.0	94.0	92.0	0.306
8	При кормлении грудью In breastfeeding	Да / Yes	47.0	53.0	47.0	0.619
9	При орально-генитальных контактах With oral-genital contact	Да / Yes	59.0	59.0	53.0	0.613

Примечание. НГМУ – Новосибирский государственный медицинский университет, НКПИ – Новосибирский колледж парикмахерского искусства, НГАУ (ФСПО) – Новосибирский государственный аграрный университет (факультет среднего профессионального образования).

Notes. NSMU – Novosibirsk State Medical University, NCHA – Novosibirsk College of Hairdressing Art, NSAU (FSVE) – Novosibirsk State Agrarian University (Faculty of Secondary Vocational Education).

0.8 % юношей и 1.2 % девушек признались в том, что подвергались насилию.

На наличие постоянного сексуального партнера указывали 67 % опрошенных студентов. За последние 3 мес 9 % респондентов имели 2 и более половых партнера. Кроме того, респондентам, живущим половой жизнью на момент опроса, был задан вопрос относительно ранее перенесенных ИППП. В ходе анализа результатов опроса удалось установить, что 6 % респондентов уже переносили одну из ИППП (сифилис, трихомониаз, гонорея, хламидиоз, микоплазмоз/уреаплазмоз).

Склонность к рискованному сексуальному поведению прослеживалась как у юношей, так и девушек. Так, 10 % девушек и 31 % юношей вступали в половую связь с малознакомыми людьми. Однополые сексуальные контакты были у 5.4 % опрошенных студентов.

Данные, полученные при анализе ответов на вопросы об использовании презервативов во время полового контакта, продемонстрировали, что почти половине опрошенных (42 %) не нравилось использовать презерватив, 28 % считали,

и 31% of boys had sexual intercourse with unfamiliar people. 5.4% of the surveyed students had same-sex sexual contacts.

The data obtained in the analysis of answers to questions about the use of condoms during sexual intercourse showed that almost half of the respondents (42%) did not like using a condom, 28% believed that using a condom disrupts the course of sexual relations, and exactly half of the students (50%) were convinced that it was impossible to fully enjoy sex with a condom. It is important to note that 11% of the students were sure: if a partner offers to use a condom, then he is sick, and 11% believed that this method of contraception is a sign of a lack of trust between partners. The majority of students (74%) did not feel ashamed when buying condoms, while awkward feelings were more typical for girls (36%) than for boys (13%). In addition, the frequency of condom use during sexual intercourse was analyzed. The respondents used a condom during sexual intercourse: “always” – 28% of girls and 31% of boys; “in most cases” – 31% of girls and 38% of boys; “sometimes” – 14% of girls and 13% of boys; “rarely” –

что использование презерватива нарушает ход сексуальных отношений, а ровно половина студентов (50 %) были уверены, что с презервативом нельзя полностью насладиться сексом. Важно отметить, что 11 % студентов были уверены: если партнер предлагает использовать презерватив, значит, он болен, а также 11 % считало, что такой метод контрацепции является признаком отсутствия доверия между партнерами. Большинство студентов (74 %) не испытывали стыда при покупке презервативов, неловкие чувства при этом более характерны для девушек (36 %), нежели для юношей (13 %). Помимо этого, была проанализирована частота использования презервативов во время полового контакта. Использовали презерватив при половом контакте: «всегда» – 28 % девушек и 31 % юношей; «в большинстве случаев» – 31 % девушек и 38 % юношей; «иногда» – 14 % девушек и 13 % юношей; «редко» – 18 % девушек и 12 % юношей; «никогда» – 9 % девушек и 5 % юношей.

При исследовании различий между девушками и юношами выяснилось, что 7 % девушек и 16 % юношей при занятии анальным сексом «всегда» использовали презерватив, «в большинстве случаев» – 2.5 и 7 %, «иногда» – 3 и 11 %, «никогда» – 57 и 40 % соответственно. Использование презерватива при вагинальном сексе также не было популярным среди опрошенных: так, к этому методу прибегало только 37 % девушек. Таким образом, установлено, что молодые люди склонны к рискованному половому поведению. Полученные данные в очередной раз доказывают необходимость работы с молодежью с целью увеличения уровня информированности о ВИЧ-инфекции и других ИППП [4].

Кроме того, интерес для нас представляла оценка знаний и отношения студентов медицинского вуза к людям с ВИЧ-инфекцией. В анкетировании «Отношение студентов-медиков к ВИЧ-инфицированным» приняли участие 1092 студента 4-го курса лечебного, педиатрического, стоматологического и медико-профилактического факультетов НГМУ. Для опроса была использована адаптированная анкета, созданная на основе типового опросника ЮНЭЙДС. Результаты опроса показали, что на момент анкетирования одной трети студентов (32 %) уже приходилось оказывать помощь пациентам с ВИЧ-инфекцией.

Анкета включала вопросы, касающиеся этических убеждений студентов медицинского вуза о тестировании, конфиденциальности и раскрытии информации, а также условиях оказания помощи пациентам с ВИЧ/СПИД (табл. 4). Боль-

18% of girls and 12% of boys; “never” – 9% of girls and 5% of boys.

When studying the differences between girls and boys, it turned out that 7% of girls and 16% of boys in anal intercourse “always” used a condom, “in most cases” – 2.5 and 7%, “sometimes” – 3 and 11%, “never” – 57 and 40% respectively. The use of a condom during vaginal intercourse was also not popular among the respondents: for example, only 37% of girls resorted to this method. Thus, it was found that young people are prone to risky sexual behavior. The data obtained once again prove the need to work with young people in order to increase the level of awareness about HIV infection and other STIs [4].

In addition, we were interested in assessing the knowledge and attitude of medical students to people with HIV infection. 1092 students of the 4th year of the Medical, Pediatric, Dentistry and Preventive Medicine faculties of NSMU took part in the questionnaire “Attitude of medical students to HIV-infected.” An adapted version of UNAIDS questionnaire was used in the study. The results of the survey showed that at the time of the survey, one third of the students (32%) had already had to provide medical assistance to patients with HIV infection.

The questionnaire included questions related to the ethical beliefs of medical students about testing, confidentiality and disclosure of information, as well as the conditions for providing medical care to patients with HIV/AIDS (Table 4). Most of the students (92%) believed that the HIV test should become an integral part of any medical attendance. But it is important to note that 87% of the students were convinced that under certain circumstances it was possible to perform the testing without the patient’s consent. Also, almost unanimously (98.6%), students agreed that medical workers should be regularly tested for HIV infection.

It should be especially noted that 89% of future doctors (977 people) believed that medical charts of HIV/AIDS patients should be clearly labeled in order to alert hospital staff about the patient’s status. In addition, a half of the surveyed students (51%) supported the statement about labeling the wards and beds of HIV-infected patients, and the majority of students (96.2%) considered it necessary to notify medical workers about the patient’s HIV status so that the staff of the medical institution could protect themselves.

In the course of the questionnaire, the results of the respondents’ answers to the questions concer-

Таблица 4. Этические убеждения студентов НГМУ о тестировании, конфиденциальности и раскрытии информации, а также условиях оказания помощи пациентам с ВИЧ/СПИД, *n* (%)**Table 4.** Ethical beliefs of the NSMU students about testing, confidentiality and disclosure of information, as well as the conditions for providing medical care to patients with HIV/AIDS, *n* (%)

Утверждения Statements	Согласен Agreement	Равнодушен Indifferent	Не согласен Disagreement
Существуют обстоятельства, при которых целесообразно тестировать пациента на ВИЧ/СПИД без его ведома или разрешения There are circumstances in which it is advisable to test a patient for HIV/AIDS without his knowledge or consent	946 (87.0)	55 (5.0)	91 (8)
Все медицинские работники должны регулярно проходить обследование на ВИЧ/СПИД All healthcare workers must be regularly tested for HIV/AIDS	1077 (98.6)	6 (0.6)	9 (0.8)
Тестирование на ВИЧ/СПИД должно регулярно проводиться как часть процесса приема для всех пациентов HIV/AIDS testing should be done regularly as part of the attendance for all patients	1008 (92.0)	42 (4.0)	42 (4.0)
Родственники пациента должны быть уведомлены о ВИЧ-статусе пациента, даже без разрешения пациента на это The patient's relatives must be notified of the patient's HIV status, even without the patient's consent	600 (55.0)	101 (9.0)	391 (36.0)
Сексуальные партнеры пациентов с ВИЧ/СПИД должны быть уведомлены о статусе пациента, даже без разрешения пациента на это Sexual partners of HIV/AIDS patients must be notified of the patient's status, even without the patient's consent	950 (87.0)	44 (4.0)	98 (9.0)
Медицинский персонал несет ответственность за информирование супруга/партнера или друга/подруги о ВИЧ-статусе пациента Medical staff are responsible for informing the spouse/partner or boyfriend/girlfriend of the patient's HIV status	647 (59.0)	142 (13.0)	303 (28.0)
Палаты/кровати пациентов с ВИЧ/СПИД должны быть четко обозначены, чтобы сотрудники больницы знали о статусе пациента Wards/beds of HIV/AIDS patients should be clearly labeled so that hospital staff are aware of the patient's status	557 (51.0)	107 (10.0)	428 (39.0)
Медицинские карты пациентов с ВИЧ/СПИД должны быть четко обозначены, чтобы сотрудники больницы знали о статусе пациента Medical charts of HIV/AIDS patients must be clearly labeled so that hospital staff are aware of the patient's status	977 (89.0)	42 (4.0)	73 (7.0)

шинство студентов (92 %) считали, что тест на ВИЧ-инфекцию должен стать неотъемлемой частью любого врачебного приема. Но важно отметить, что 87 % студентов были уверены, что при определенных обстоятельствах можно проводить этот тест без согласия пациента. Также практически единогласно (98.6 %) студенты согласились с тем, что медицинские работники должны регулярно проходить обследование на ВИЧ-инфекцию.

Особо следует отметить то, что 89 % будущих врачей (977 чел.) считали, что медицинские карты пациентов с ВИЧ/СПИД должны иметь четкую маркировку в целях оповещения сотрудников

ning the attitude of students of medical universities to provision of medical care to patients with HIV infection were analyzed. It was found that the majority of students (63%) were concerned about the lack of training at the university in the skills of counseling HIV-infected. According to the survey results, a tendency to avoid professional contact with HIV-infected patients was revealed in students. More than a half of the respondents (61%) noted that it is more comfortable for them to provide care to a patient without HIV infection. A third of students will try to avoid caring for HIV-infected patients, and 20% of those surveyed will refuse to treat HIV-infected patients altogether. More than a half of

больницы о статусе пациента. Помимо этого, половина опрошенных студентов (51 %) поддержали утверждение о маркировке палат и кроватей ВИЧ-инфицированных пациентов, а также большая часть студентов (96.2 %) считали необходимым уведомлять медицинских работников о ВИЧ-статусе пациента, чтобы сотрудники медицинского учреждения могли обезопасить себя.

В ходе анкетирования были проанализированы результаты ответов респондентов на вопросы, касающиеся отношения студентов медицинских вузов к оказанию помощи больным с ВИЧ-инфекцией. Было выяснено, что большая часть студентов (63 %) была обеспокоена недостаточным обучением в вузе навыкам консультирования ВИЧ-инфицированных. По результатам опроса была выявлена склонность студентов к избеганию профессионального контакта с ВИЧ-инфицированными пациентами. Больше половины опрошенных студентов (61 %) отметили, что оказывать помощь больному без ВИЧ-инфекции для них является более комфортным. Треть студентов будет пытаться избегать ухода за ВИЧ-инфицированными больными, а 20 % опрошенных вовсе откажут в лечении пациенту с ВИЧ-инфекцией. Больше половины будущих врачей (69 %) испытывали страх заражения ВИЧ-инфекцией во время оказания помощи ВИЧ-инфицированному больному. Большинство опрошенных студентов (73 %) не согласились с утверждением: «Люди с ВИЧ/СПИД ведут себя безнравственно и заслуживают это заболевание».

Важно обратить внимание на следующий факт: 73 % студентов отметили, что большинство людей считают изгоями пациентов с ВИЧ-инфекцией. По этой причине консультирование может улучшить качество жизни таких пациентов, это подтвердили 88 % опрошенных.

Установлено, что будущие врачи обладают моральной зрелостью и отсутствием стереотипного мышления, что проявляется в их позитивном отношении к ВИЧ-инфицированным и отсутствием осуждения данной группы пациентов. Также проведенный опрос выявил нехватку знаний в правовых аспектах данной проблемы, поскольку проведение теста на ВИЧ-инфекцию без согласия пациента, маркировка его карты и палаты/койки, разглашение ВИЧ-статуса пациента без его согласия является прямым нарушением прав человека на конфиденциальность.

Полученные результаты дополняют и подтверждают данные аналогичного исследования, посвященного стереотипным представлениям о ВИЧ-инфекции [5]. Как нехватка знаний в обла-

future doctors (69%) experienced fear of contracting HIV while providing care to an HIV-infected patient. Most of the surveyed students (73%) disagreed with the statement: "People with HIV/AIDS behave immorally and deserve this disease."

It is important to pay attention to the following fact: 73% of students noted that most people consider HIV patients as outcasts. For this reason, counseling can improve the quality of life of such patients, this was confirmed by 88% of those surveyed.

It has been established that future doctors have moral maturity and a lack of stereotypical thinking, which is manifested in their positive attitude towards HIV-infected people and a lack of condemnation of this group of patients. The survey also revealed a lack of knowledge in the legal aspects of this problem, since HIV testing without the patient's consent, labeling his medical chart and ward/bed, disclosing the patient's HIV status without his consent is a direct violation of human rights to confidentiality.

The results obtained complement and confirm the data of a similar study devoted to stereotypical beliefs about HIV infection [5]. A lack of knowledge of the legal aspects of medical care for HIV-infected people and misconceptions about the infection contribute to the growth of the epidemic. Due to the fact that the students of the medical university demonstrated ignorance of the legal aspects of providing medical care to HIV-infected patients, we need the more detailed study of the legislative acts of the Russian Federation concerning the rights of HIV-infected patients, and of legal documents regulating provision of social and medical care to HIV-infected while training the future doctors for their professional activities.

Among the emotions that students of the medical university show in relation to HIV-infected people, sympathy and a desire to help prevail, but negative emotions are also observed, these, first of all, include anxiety and fear [6]. The fear of contracting HIV infection causes communication problems, students try to avoid these patients, which can lead to evasion of their duties towards these patients. In order to identify other barriers to communication between students and HIV-infected, the level of communicative tolerance was assessed using methodology of V.V. Boyko [7].

Communicative tolerance is an important element of the professional communicative competence of a specialist. It allows the doctor in the course of communication to treat the patient as a person, to perceive him adequately and to take a

сти правовых аспектов оказания помощи ВИЧ-инфицированным, так и неверные представления об этой инфекции способствуют росту эпидемии. В связи с тем, что студенты медицинского вуза продемонстрировали незнание правовых аспектов оказания помощи ВИЧ-инфицированным больным, необходимо во время подготовки будущих врачей к профессиональной деятельности более детальное изучение законодательных актов РФ, касающихся прав ВИЧ-инфицированных пациентов, изучение нормативно-правовых документов, регламентирующих оказание социальной и медицинской помощи ВИЧ-инфицированным.

Среди эмоций, которые студенты медицинского вуза проявляют по отношению к ВИЧ-инфицированным, преобладает сочувствие, желание помочь, однако наблюдаются также и отрицательные эмоции, к ним, прежде всего, относятся тревога и страх [6]. Страх заражения ВИЧ-инфекцией вызывает проблемы коммуникации, студенты стараются избегать этих пациентов, что может привести к уклонению от исполнения своих обязанностей по отношению к пациентам. С целью обнаружения других барьеров коммуникации между студентами и ВИЧ-инфицированными была проведена оценка уровня коммуникативной толерантности с помощью методики В.В. Бойко [7].

Коммуникативная толерантность является важным элементом профессиональной коммуникативной компетентности специалиста. Она позволяет врачу в процессе общения относиться к пациенту как к личности, адекватно воспринимать его и принимать пациента таким, какой он есть. Владение навыками общения с пациентом, его родственниками – принципиально важное качество любого врача, от которого зависит не только удовлетворенность пациента, но и его приверженность лечению [8]. В процессе общения социально-психологический контекст и смысл информации от врача, взаимоотношения, которые складываются в системе «врач – пациент», становятся мощным стимулом формирующегося оптимизма или пессимизма пациента относительно перспектив собственного оздоровления [9].

Методика диагностики коммуникативной толерантности, предложенная В.В. Бойко (2003), позволяет определить, в какой степени человек в процессе делового или межличностного общения способен проявить терпимость к партнерам по общению [10]. Тест Бойко содержит 45 вопросов-утверждений, которые сгруппированы в 9 шкал (рис. 2). Респонденты должны

patient as you find him. Possession of communication skills with the patient and his relatives is a fundamentally important quality of any doctor, on which not only the patient's satisfaction depends, but also his adherence to treatment [8]. In the process of communication, the socio-psychological context and meaning of information coming from the doctor, the relationship that develops in the doctor–patient system become a powerful stimulus for the patient to develop optimism or pessimism regarding the prospects for his own recovery [9].

The diagnostic methodology of communicative tolerance proposed by V.V. Boyko (2003) makes it possible to determine the extent to which a person in the course of business or interpersonal communication is able to show tolerance towards communication partners [10]. Boyko's test contains 45 questions-statements, which are grouped into 9 scales (Fig. 2). The respondents had to assess how these statements are true in relation to them, using points from 0 to 3. The more points scored, the lower the degree of tolerance. The maximum number of points that can be gained by answering all the questions of the questionnaire is 135; the maximum number of points for each of the scales is 15.

1048 students took part in the questionnaire, dedicated to the assessment of the general communicative tolerance of students according to V.V. Boyko's method, including 856 students of NSMU (293 students of the Pediatric Faculty, 478 students of the Medical Faculty and 85 students of the Faculty of Dentistry) and 192 students of the Faculty of Secondary Vocational Education. The Boyko's test results for the entire questionnaire and for individual scales are presented in Table 5.

It was found that the NSMU students generally have good communicative tolerance: the students of the Medical Faculty showed an average level, and the students of the Pediatric Faculty and Faculty of Dentistry showed a high level of communicative tolerance. However, the following communication features were revealed: rejection of the individuality of another person, categorical and conservative assessments of other people; desire to conform a partner to you, to make him convenient; inability to forgive others for mistakes. The revealed features of attitudes towards communication partners can become the basis for the formation of prejudices regarding patients due to a tendency to black-and-white thinking, inability to forgive other people's mistakes, using oneself as a reference in evaluating others, and unwillingness

Шкала 1 Scale 1	Неприятие или непонимание индивидуальности человека Rejection or misunderstanding of a person's individuality
Шкала 2 Scale 2	Использование себя в качестве эталона при оценках других Using yourself as a reference when evaluating others
Шкала 3 Scale 3	Категоричность или консерватизм в оценках людей Categorical or conservative assessments of people
Шкала 4 Scale 4	Неумение скрывать или сглаживать неприятные чувства Inability to hide or smooth over unpleasant feelings
Шкала 5 Scale 5	Стремление переделать, перевоспитать партнера по общению Desire to remake, reeducate a communication partner
Шкала 6 Scale 6	Стремление подогнать других под себя Striving to fit others to suit you
Шкала 7 Scale 7	Неумение прощать другому ошибки Inability to forgive another person's mistakes
Шкала 8 Scale 8	Нетерпимость к дискомфортным (болезнь, усталость, отсутствие настроения) состояниям партнера по общению Intolerance of the discomfort states (illness, fatigue, being not in the mood) of a communication partner
Шкала 9 Scale 9	Неумение приспосабливаться к другим участникам общения Inability to adapt to other participants in communication

Рис. 2. Шкалы теста коммуникативной толерантности по В.В. Бойко
Fig. 2. The scales of the test of communicative tolerance according to V.V. Boyko

были оценить, насколько данные утверждения верны по отношению к ним, используя баллы от 0 до 3. Чем больше набрано баллов, тем ниже степень толерантности. Максимальное количество баллов, которое можно набрать, ответив на все вопросы анкеты – 135; максимальное количество баллов за каждую из шкал – 15.

В анкетировании, посвященном оценке общей коммуникативной толерантности студентов по методике В.В. Бойко, приняли участие 1048 студентов: из них 856 чел. – студенты НГМУ (293 студента педиатрического факультета, 478 студентов лечебного факультета и 85 студентов стоматологического факультета) и 192 человека – учащиеся на факультете среднего профессионального образования. Результаты теста Бойко по всему опроснику и по отдельным шкалам представлены в табл. 5.

Было обнаружено, что студенты НГМУ обладают в целом хорошей коммуникативной толерантностью: студенты лечебного факультета показали средний уровень, а студенты педиатрического и стоматологического факультетов – высокий уровень коммуникативной толерантности. Однако были выявлены следующие особенности коммуникации: неприятие индивидуальности другого человека, категоричность и консерватизм в оценках других людей; стремление

to accept another person with all his traits. It should be noted that according to the scale concerning the attitude to the patient's conditions of discomfort (illness, fatigue, being not in the mood), the highest degree of tolerance was established in comparison with other scales among students of all three faculties. This feature is based on a developed sense of empathy, an expressed ability to show compassion.

The tendency to avoid contact with HIV-infected patients among students of the medical university is associated not with an indifferent or dismissive attitude towards patients, but with the fear of infection. This fear decreases with the acquisition and accumulation of knowledge about the routes of transmission of infection and the possibility of preventing infection. This is an important characteristic of young people's willingness to accept such patients and coexist with them without stigmatizing beliefs. The problem areas identified as a result of the analysis of individual scales according to the Boyko's test in the communicative tolerance of medical students (rejection of the individuality of another person, opinionatedness and conservatism in the assessments of other people) and students of secondary vocational educational institutions (the desire to adjust other participants of communication for themselves) require correction. Communi-

Таблица 5. Средний балл по тесту коммуникативной толерантности В.В. Бойко
Table 5. Average score on the test of communicative tolerance by V.V. Boyko

Шкала Scale	Педиатри- ческий факультет Pediatric Faculty	Лечебный факультет Medical Faculty	Стоматоло- гический факультет Faculty of Dentistry	В среднем по шкале Average for scale
1. Неприятие или непонимание индивидуальности человека Rejection or misunderstanding of a person's individuality	5.25	5.87	4.78	5 (5.3)
2. Использование себя в качестве эталона при оценках других Using yourself as a reference when evaluating others	4.56	5.25	4.54	5 (4.78)
3. Категоричность или консерватизм в оценках людей Categorical or conservative assessments of people	5.48	6.43	4.72	5 (5.54)
4. Неумение скрывать или сглаживать неприятные чувства Inability to hide or smooth over unpleasant feelings	5.12	5.54	4.74	5 (5.13)
5. Стремление переделать, перевоспитать партнера по общению Desire to remake, reeducate a communication partner	4.73	4.91	3.88	4 (4.5)
6. Стремление подогнать других под себя Striving to fit others to suit you	5.37	5.75	3.97	5 (5.03)
7. Неумение прощать другому ошибки Inability to forgive another person's mistakes	5.03	5.95	4.44	5 (5.14)
8. Нетерпимость к дискомфортным (болезнь, усталость, отсутствие настроения) состояниям партнера по общению Intolerance of the discomfort states (illness, fatigue, being not in the mood) of a communication partner	3.27	3.75	3.1	4 (3.73)
9. Неумение приспосабливаться к другим участникам общения Inability to adapt to other participants in communication	4.33	5	4.58	5 (4.63)
<i>Среднее количество баллов по всей анкете</i> <i>Average score for the whole questionnaire</i>	43	48	39	43

подогнать под себя партнера, сделать его удобным; неумение прощать другим ошибки. Выявленные особенности отношения к партнерам по коммуникации могут стать основой для формирования предубеждений относительно пациентов в связи со склонностью к категоричности мышления, неумению прощать чужие ошибки, использованию себя в качестве эталона при оценках других, неготовности принять другого человека со всеми его особенностями. Следует обратить внимание на то, что по шкале, касающейся отношения к дискомфортным состояниям пациента (болезнь, усталость, отсутствие настроения), была установлена самая высокая степень толерантности по сравнению с другими шкалами у студентов всех трех факультетов. Эта особенность

communication tolerance can be developed, and the period of study at a university and college is just the most favorable for self-development and personal growth.

CONCLUSION

There is a low awareness of sexual health among young people. The lack of knowledge of the legal aspects of providing care to HIV-infected patients revealed in the course of the survey among students of a medical university requires a more detailed study of these issues during the training of future doctors for professional activities.

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

основывается на развитом чувстве эмпатии, выраженной способности к сопереживанию.

Выявленная в процессе опроса у студентов медицинского вуза тенденция избегать контакта с ВИЧ-инфицированными пациентами связана не с безразличным или пренебрежительным отношением к пациентам, а со страхом заражения. Этот страх уменьшается по мере получения и накопления знаний о способах передачи инфекции и возможности профилактики заражения. Это важная характеристика готовности молодых людей принять таких больных и сосуществовать с ними без стигматизирующих убеждений. Выявленные в результате анализа отдельных шкал в тесте Бойко проблемные зоны в коммуникативной толерантности студентов медицинского вуза (непринятие индивидуальности другого человека, категоричность и консерватизм в оценках других людей) и учащиеся среднеспециальных

образовательных учреждений (стремление подогнать других участников коммуникации под себя) требуют коррекции. Коммуникативную толерантность можно развивать, и период обучения в вузе и колледже является как раз наиболее благоприятным для саморазвития и личностного роста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди молодых людей отмечается низкая информированность в отношении сексуального здоровья. Выявленное в процессе опроса у студентов медицинского вуза незнание правовых аспектов оказания помощи ВИЧ-инфицированным больным требует более детального изучения данных вопросов во время подготовки будущих врачей к профессиональной деятельности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кисина В.И., Вавилов В.В. Социально значимые инфекции, передаваемые половым путем: эпидемиологические тенденции // *Врач*. 2009;11:37–41.
2. Эпидемия ВИЧ в России в 2019–2021 годах. URL: <https://spid-vich-zppp.ru/statistika/vich-v-rossii-2019.html> (дата обращения: 02.12.2021).
3. ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России [титовая страница сайта]. URL: <https://last.mednet.ru/miac/meditsinskaya-statistika#h5-sotsialno-znachimye-zabolevaniya> (дата обращения: 02.12.2021).
4. Хрянин А.А., Решетников О.В., Шпикс Т.А. и др. Знания и информированность молодых людей о ВИЧ/СПИД и особенности их полового поведения // *Вестн. дерматологии и венерологии*. 2018;94(5):59–65. doi: 10.25208/0042-4609-2018-94-5-59-65.
5. Антонова Д.В., Бочаров В.В., Хрусталева Н.С. Стереотипы представлений о ВИЧ-инфекции, способствующие росту эпидемии // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020;12(3):51–58. doi: 10.22328/2077-9828-2020-12-3-51-58.
6. Усолкина Е.Н., Шпикс Т.А., Тагильцева Е.Н. Исследование уровня коммуникативной толерантности и тревожности у студентов медицинского вуза // *Педагогический профессионализм в современном медицинском образовании*: сб. науч. тр. Новосибирск: ИПЦ НГМУ, 2020. С. 123–130.
7. Методика диагностики коммуникативной установки. Толерантное сознание и формирование толерантных отношений (теория и практика): сб. науч.-метод. ст. под ред. С.К. Бондырева. 2-е изд. М.; Воронеж, 2003. С. 386.
8. Бойко В.В. Энергия эмоций в общении: взгляд на себя и на других. М., 1996. 472 с.
9. Хрянин А.А., Решетников О.В., Бочарова В.К., Русских М.В., Маринкин И.О. Отношение студентов-

REFERENCES

1. Kisina V.I., Vavilov V.V. Social infections that are sexually transmitted: epidemiological tendencies. *Vrach*. 2009;11:37–41. (In Russ.)
2. HIV epidemic in Russia in 2019–2021. URL: <https://spid-vich-zppp.ru/statistika/vich-v-rossii-2019.html> (accessed 02.12.2021).
3. Federal State Budgetary Institution “Central Research Institute of Organization and Informatization of Healthcare” of the Ministry of Health of Russia [website title page]. URL: <https://last.mednet.ru/miac/meditsinskaya-statistika#h5-sotsialno-znachimye-zabolevaniya> (accessed 02.12.2021).
4. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V., Shpiks T.A. et al. HIV/AIDS awareness among young people and their sexual behavior. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2018;94(5):59–65. doi: 10.25208/0042-4609-2018-94-5-59-65. (In Russ.)
5. Antonova D.V., Bocharov V.V., Chrustaleva N.S. Stereotypes of representations about HIV, contributing to the epidemic growth. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2020;12(3):51–58. doi: 10.22328/2077-9828-2020-12-3-51-58. (In Russ.)
6. Usolkina E.N., Shpiks T.A., Tagiltseva E.N. (2020). Study of the level of communicative tolerance and anxiety among medical students. In *Pedagogical Professionalism in Modern Medical Education*: collection of scient. papers. Novosibirsk, pp. 123–130. (In Russ.)
7. Bondyreva S.K. (ed.) (2003). *Method of Diagnosis a Communicative Mindset. Tolerant Consciousness and the Formation of Tolerant Relations (Theory and Practice)*: collection of research and methodological papers. 2nd ed. Moscow, Voronezh, p. 386. (In Russ.)
8. Boyko V.V. (1996). *The Energy of Emotions in Communication: a Look at Yourself and Others*. Moscow. 472 p. (In Russ.)
9. Khryanin A.A., Reshetnikov O.V., Bocharova V.K., Russkikh M.V., Marinkin I.O. Attitude of medical

- медиков к ВИЧ-инфицированным // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019;11(3):92–97. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-92-97.
10. Мазелис В.В., Мазелис А.Л., Чернявская В.С. Обратная связь в диагностике структуры представлений о взаимоотношениях врача и больного // Мир науки, культуры, образования. 2013;4(41):242–245.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Хрянин Алексей Алексеевич – д-р мед. наук, профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-9248-8303, eLibrary SPIN: 4311-2475.

Маринкин Игорь Олегович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, ректор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9409-4823.

Шпикс Татьяна Александровна – канд. мед. наук, доцент кафедры педагогики и психологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6837-9510.

Русских Мария Викторовна – ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4957-0154.

Черникова Евгения Васильевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9297-6064.

- students to HIV infected persons. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2019;11(3):92–97. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-3-92-97. (In Russ.)
10. Mazelis V.V., Mazelis A.L., Chernjavskaja V.S. Feedback in the diagnosis of structure conception of doctor and patient interrelations. *World of Science, Culture and Education*. 2013;4(41):242–245. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Alexey A. Khryanin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9248-8303, eLibrary SPIN: 4311-2475.

Igor O. Marinkin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Rector, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9409-4823.

Tatyana A. Shpiks – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Pedagogy and Psychology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6837-9510.

Maria V. Russkikh – Assistant, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4957-0154.

Evgenia V. Chernikova – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9297-6064.

Профиль экспрессии ряда микроРНК в плаценте при своевременных и преждевременных родах

Е.Л. Казачков¹, Ю.А. Семёнов¹, Ю.А. Веряскина², Э.А. Казачкова¹, А.В. Чижовская¹

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

²ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК (миРНК) в плацентах, полученных при своевременных и спонтанных преждевременных родах (ПР), позволит выявить те миРНК, которые участвуют в генезе спонтанных ПР. МиРНК, характеризующиеся аберрантной экспрессией в тканях плаценты, могут являться перспективными биомаркерами в крови беременных для оценки риска спонтанных ПР.

Ц е л ь . Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК в ткани плаценты у женщин при своевременных и преждевременных родах.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведен анализ уровня экспрессии ряда миРНК в ткани плаценты от 30 пациенток с ПР и перинатальными потерями (1-я группа), от 30 пациенток с ПР без перинатальных потерь (2-я группа), от 30 родильниц со своевременными родами (3-я группа). Изучали уровень экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Для этого поэтапно проводили депарафинизацию материала с использованием минерального масла, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию в реальном времени.

Р е з у л ь т а т ы . Установлено, что при ПР в образцах плацент отмечается статистически значимое увеличение уровней экспрессии миРНК-125b, миРНК-29b и снижение уровня экспрессии миРНК-451 по сравнению с плацентами при своевременных родах. При наличии ПР с перинатальными потерями зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии миРНК-150 в плаценте, а при отсутствии перинатальных потерь – увеличение уровня экспрессии миРНК-223 и миРНК-31 по сравнению с плацентами при своевременных родах. Кроме того, при ПР с перинатальными потерями по сравнению с ПР без перинатальных потерь отмечается статистически значимо более низкий уровень экспрессии миРНК-221 и миРНК-223.

З а к л ь ч е н и е . Аберрантные значения уровней экспрессии миРНК-125b, миРНК-29b и миРНК-451 в плацентах пациенток с ПР свидетельствуют об их участии в патогенезе последних, по-видимому, за счет нарушения регуляции процессов ангиогенеза, апоптоза, инвазии трофобласта и метаболизма глюкозы.

Ключевые слова: экспрессия микроРНК, плацента, своевременные и преждевременные роды.

Образец цитирования: Казачков Е.Л., Семёнов Ю.А., Веряскина Ю.А., Казачкова Э.А., Чижовская А.В. Профиль экспрессии ряда микроРНК в плаценте при своевременных и преждевременных родах // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):22–37. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-22-37

The expression profile of a number of miRNAs in the placenta in timely and premature birth

E.L. Kazachkov¹, Yu.A. Semenov¹, Yu.A. Veryaskina², E.A. Kazachkova¹, A.V. Chizhovskaya¹

¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

²Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Comparative analysis of the expression levels of a number of microRNAs (miRNAs) in placentas obtained during timely and spontaneous preterm birth (PB) will make it possible to identify those miRNAs that are involved

Поступила в редакцию 27.10.2021
Прошла рецензирование 10.11.2021
Принята к публикации 30.11.2021

Автор, ответственный за переписку
Казачков Евгений Леонидович: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
E-mail: doctorkel@yandex.ru

Received 27.10.2021
Revised 10.11.2021
Accepted 30.11.2021

Corresponding author
Evgeny L. Kazachkov: South Ural State Medical University, 64, Vorovsky str., Chelyabinsk, 454092, Russia.
E-mail: doctorkel@yandex.ru

in the genesis of spontaneous PB. MiRNAs characterized by aberrant expression in placental tissues may be promising biomarkers in the blood of pregnant women for assessing the risk of spontaneous PB.

Aim. Comparative analysis of expression levels of a number of microRNAs in placental tissue in women in timely and premature birth.

Materials and Methods. We performed an analysis of the expression level of a number of miRNAs in placental tissue from 30 patients with PB and perinatal losses (group 1), from 30 patients with PB without perinatal losses (group 2), from 30 maternity women with timely delivery (group 3). The expression levels of the following miRNAs were studied: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. For this, the material was deparaffinated step by step using mineral oil, then the RNA extraction, reverse transcription reaction, and real-time polymerase chain reaction were carried out.

Results. It was found that in PB a statistically significant increase in the expression levels of miRNA-125b, miRNA-29b is observed in placental samples, and a decrease in the expression level of miRNA-451 in comparison with timely delivery placentas. In the PB with perinatal losses, a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-150 was registered, and in the absence of perinatal losses, an increase in the expression level of miRNA-223 and miRNA-31 compared with placentas in timely delivery was revealed. In addition, in PB with perinatal losses compared to PB without perinatal losses, a statistically significantly lower level of expression of miRNA-221 and miRNA-223 is noted.

Conclusion. Aberrant expression levels of miRNA-125b, miRNA-29b, and miRNA-451 in the placentas of patients with PB indicate their involvement in the pathogenesis of the latter, apparently due to dysregulation of angiogenesis, apoptosis, trophoblast invasion and glucose metabolism.

Keywords: miRNA expression, placenta, timely and premature birth.

Citation example: Kazachkov E.L., Semenov Yu.A., Veryaskina Yu.A., Kazachkova E.A., Chizhovskaya A.V. The expression profile of a number of miRNAs in the placenta in timely and premature birth. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):22–37. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-22-37

ВВЕДЕНИЕ

Плацента является провизорным органом, обеспечивающим взаимосвязь между организмами матери и плода и играющим первостепенную роль в нормальном развитии последнего. Повреждения плаценты могут явиться причиной различных осложнений беременности как со стороны плода, так и матери [1, 2].

Формирование плаценты сопровождается такими процессами, как апоптоз, пролиферация, дифференцировка, инвазия, ангиогенез. Молекулярно-генетические aberrации и эпигенетические воздействия могут вносить коррективы в физиологическое формирование плаценты и способствовать развитию патологии беременности [3, 4].

В последние годы все более возрастает интерес к исследованию микроРНК (миРНК). В базе данных MirGeneGB 2.0 в 2020 г. аннотирован список из 556 подтвержденных миРНК у человека [5]. МиРНК – небольшие некодирующие РНК, они осуществляют посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов, как правило, негативную, и тем самым координируют биологические процессы в организме, в том числе при беременности [6–8].

МиРНК играют критическую роль в формировании и функционировании плаценты, регулируя экспрессию генов, участвующих в пролифе-

INTRODUCTION

The placenta is a provisional organ that provides the relationship between the organisms of the mother and the fetus, and plays a primary role in the normal development of the latter. Placental lesions can cause various pregnancy complications, both on the part of the fetus and the mother [1, 2].

The formation of the placenta is accompanied by such processes as apoptosis, proliferation, differentiation, invasion, angiogenesis. Molecular genetic aberrations and epigenetic effects can influence the physiological formation of the placenta and contribute to the development of pregnancy pathology [3, 4].

In recent years, there has been an increasing interest in the study of microRNAs (miRNAs). In the MirGeneGB 2.0 database in 2020, a list of 556 confirmed miRNAs in humans was annotated [5]. MiRNAs are small noncoding RNAs; they carry out posttranscriptional regulation of gene expression, usually negative, and thus coordinate biological processes in the body, including during pregnancy [6–8].

MiRNAs play a critical role in the formation and functioning of the placenta by regulating the expression of genes involved in the proliferation, differentiation, and invasion of trophoblast cells [5]. Gu et al. [9] determined miRNA expression profiles in the placenta of the first and third trimesters, which made it possible to identify 191 mature miRNAs spe-

рации, дифференцировке и инвазии клеток трофобласта [5]. У. Gu et al. [9] определили профили экспрессии миРНК в плаценте первого и третьего триместра, что позволило выявить 191 зрелую миРНК, специфичную для плацентарной ткани. В исследовании А. Ali et al. [8] показано, что миРНК из плаценты могут экспортироваться в кровотоки как плода, так и матери и служить биомаркером для раннего выявления осложнений беременности. Имеются работы, свидетельствующие о роли ряда миРНК в генезе преэклампсии, задержки роста плода, гестационного сахарного диабета [10–13]. Логично было бы предположить, что сравнительный анализ уровней экспрессии ряда миРНК в плацентах, полученных при своевременных и спонтанных преждевременных родах (ПР), позволит выявить те миРНК, которые участвуют в генезе спонтанных ПР. Кроме того, с практической точки зрения миРНК, характеризующиеся aberrантной экспрессией в тканях плаценты, могут являться перспективными биомаркерами в крови беременных для оценки риска спонтанных ПР.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ уровней экспрессии ряда микроРНК в ткани плаценты у женщин со своевременными и преждевременными родами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сравнительного анализа уровня экспрессии ряда миРНК ткани плаценты при своевременных и преждевременных родах исследовано 90 образцов плацентарной ткани: 1-ю группу составили образцы плацентарной ткани пациенток, беременность которых закончилась спонтанными ПР с перинатальными потерями ($n = 30$); 2-ю группу – образцы плацентарной ткани пациенток с ПР без перинатальных потерь ($n = 30$); 3-ю группу – образцы плацентарной ткани родильниц со своевременными родами ($n = 30$).

Критерии включения в 1-ю и 2-ю группу: спонтанные ранние ПР, ПР, поздние ПР, наблюдение в женской консультации, наличие медицинской документации.

Критерии включения в 3-ю группу: спонтанные своевременные роды живым плодом, наблюдение в женской консультации, наличие медицинской документации.

Критерии исключения: очень ранние ПР (22–27 нед 6 дней), индуцированные ПР, многоплодная беременность, беременность после экстракорпорального оплодотворения, антенатальная гибель плода, наличие врожденных пороков раз-

сифицированных для плацентарной ткани. Ali et al. [8] showed in their study that miRNAs from the placenta can be exported into the bloodstream of both the fetus and the mother and serve as a biomarker for early detection of pregnancy complications. There are research works that testify to the role of a number of miRNAs in the genesis of preeclampsia, fetal growth retardation, and gestational diabetes mellitus [10–13]. It would be logical to assume that a comparative analysis of the expression levels of a number of miRNAs in placentas obtained during timely and spontaneous preterm birth (PB) would make it possible to identify those miRNAs that are involved in the genesis of spontaneous PB. In addition, from a practical point of view, miRNAs characterized by aberrant expression in placental tissues may be promising biomarkers in the blood of pregnant women for assessing the risk of spontaneous PB.

AIM OF THE RESEARCH

Comparative analysis of expression levels of a number of miRNAs in placental tissue in women with timely and premature birth.

MATERIALS AND METHODS

For a comparative analysis of the level of expression of a number of miRNAs in placental tissue during timely and preterm birth, 90 placental tissue samples were studied: group 1 consisted of placental tissue samples of patients whose pregnancy ended in spontaneous PB with perinatal losses ($n = 30$); group 2 consisted of placental tissue samples of patients with PB without perinatal losses ($n = 30$); group 3 consisted of placental tissue samples of maternity women with timely delivery ($n = 30$).

Criteria for including in the 1st and 2nd groups: spontaneous early PB, PB, late PB, observation in the antenatal clinic, availability of medical documentation.

Criteria for including in the 3rd group: spontaneous timely delivery of a live fetus, observation in the antenatal clinic, availability of medical documentation.

Exclusion criteria: very early PB (22–27 weeks 6 days), induced PB, multiple pregnancy, pregnancy after *in vitro* fertilization, antenatal fetal death, the presence of congenital malformations of the fetus, severe preeclampsia, premature detachment of a normally implanted placenta, placenta previa, uterine malformations, severe extragenital diseases with decompensation, HIV infection, tuberculosis, malignant tumors of any localization.

After macroscopic examination of the afterbirth, a strip of tissue $3 \times 0.5 \times 0.5$ cm was excised from the

вития плода, тяжелая преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, предлежание плаценты, пороки развития матки, тяжелые экстрагенитальные заболевания с декомпенсацией, ВИЧ-инфекция, туберкулез, злокачественные опухоли любой локализации.

После макроскопического изучения последа из центральной зоны плацентарного диска иссекали полоску ткани $3 \times 0.5 \times 0.5$ см, которую прикрепляли к плотной бумаге наружной (материнской) поверхностью и фиксировали в 10% нейтральном формалине. Затем из плаценты вырезали 3–4 кусочка ткани размерами $2 \times 2 \times 3$ см. Фрагменты проводили по традиционной схеме [14] и изготавливали срезы толщиной 5 мкм.

Исследование уровня экспрессии миРНК в ткани плаценты выполняли в лаборатории молекулярной генетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН (Новосибирск). Изучали уровень экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Для этого поэтапно проводили депарафинизацию материала с использованием минерального масла, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени.

Для депарафинизации с использованием минерального масла в пробирку объемом 1.5 мл, содержащую 2 парафиновых среза ткани плаценты толщиной 5 мкм, добавляли 1 мл минерального масла и тщательно перемешивали на вортексе в течение 10 с. Далее пробирки помещали в термощейкер при температуре 65°C и инкубировали в течение 2 мин с частотой вращения 1300 об./мин. Затем центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. После этого удаляли надосадочную жидкость, не захватывая осадок. В осадок вносили 1 мл 96% этанола и перемешивали на вортексе в течение 10 с с последующим центрифугированием при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. Далее удаляли надосадочную жидкость, не захватывая осадок, с последующим внесением 1 мл 70% этанола. Затем проводили центрифугирование при 13 000–15 000 г в течение 2 мин. Полученный осадок использовали в качестве дальнейшего материала для выделения нуклеиновых кислот.

Выделение нуклеиновых кислот из образцов проводили с использованием набора реагентов «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия). К образцам ткани плаценты, полученным после депарафинизации, добавляли 700 мкл

central zone of the placental disc, which was attached to thick paper with the outer (maternal) surface and fixed in 10% neutral formalin. Then, 3–4 pieces of tissue $2 \times 2 \times 3$ cm in size were excised from the placenta. The fragments were processed according to the traditional scheme [14] and sections were made with a thickness of 5 μm .

The study of miRNA expression level in the placental tissue was performed at the Laboratory of Molecular Genetics of the Institute of Molecular and Cellular Biology (Novosibirsk). The expression levels of the following miRNAs were determined: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. For this, we carried out the step by step deparaffinization of the material using mineral oil, then the RNA extraction; reverse transcription reaction, and real-time polymerase chain reaction (PCR).

For deparaffinization, 1 ml of mineral oil was added to a 1.5 ml tube containing 2 paraffin sections of the placental tissue 5 μm thick, and thoroughly mixed on a vortex for 10 s. Next, the tubes were placed in a thermoshaker at a temperature of 65°C and incubated for 2 min at a rotational speed of 1300 rpm. Then they were centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. After that, the supernatant was removed without capturing the precipitate. 1 ml of 96% ethanol was added to the precipitate and vortexed for 10 s followed by centrifugation at 13 000–15 000 g for 4 min. Next, the supernatant was removed without capturing the precipitate, followed by the addition of 1 ml of 70% ethanol. Then, centrifugation was performed at 13 000–15 000 g for 2 min. The resulting precipitate was used as a further material for the isolation of nucleic acids.

Isolation of nucleic acids from the samples was performed using the RealBest Extraction 100 reagent kit (Vector-Best, Russia). 700 μl of lysing solution were added to the placental tissue samples obtained after deparaffinization. The tissue in the solution was intensively mixed in a TS-20 Thermo-Shaker (Biosan, Latvia) for 60 min at 90°C at a rotational speed of 1300 rpm. Next, the solution was centrifuged for 2 min at 15 000 rpm (Eppendorf MiniSpin with F-45-12-11 angular rotor, Germany) and 600 μl of the supernatant was transferred into new tubes, adding an equal volume of isopropanol and 10 μl of magnetic particle suspension to it. Then mixed and left for 5 min at room temperature. At the next stage of isolation, centrifugation was performed for 10 min at 13 000 rpm, the supernatant was discarded, and the precipitate was washed with 500 μl of 70% ethanol, then with 300 μl of acetone. The resulting precipitate was dried and dissolved in 300 μl of the elu-

лизирующего раствора. Ткань в растворе интенсивно перемешивали в термошейкере TS-20 (Biosan, Латвия) в течение 60 мин при температуре 90 °С с частотой вращения 1300 об./мин. Далее раствор центрифугировали в течение 2 мин при 15 000 об./мин (ротор угловой F-45-12-11 MiniSpin Eppendorf, Germany) и переносили 600 мкл супернатанта в новые пробирки, добавляя к нему равный объем изопропанола и 10 мкл суспензии магнитных частиц. Затем перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. На следующем этапе выделения проводили центрифугирование в течение 10 мин при 13 000 об./мин, супернатант сливали, а осадок промывали с помощью 500 мкл 70% этанола, затем 300 мкл ацетона. Полученный осадок высушивали и растворяли в 300 мкл элюирующего раствора. Далее пробирки помещали в термошейкер при температуре 65 °С и инкубировали в течение 5 мин с частотой вращения 1300 об./мин. Затем центрифугировали при 13 000–15 000 g в течение 1 мин. Концентрацию тотальной РНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop 2000C (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Концентрация РНК выделенных препаратов находилась в диапазоне 75.6–123.6 нг/мкл.

Реакцию обратной транскрипции для получения комплементарной ДНК (кДНК) проводили в объеме 30 мкл. Использовали готовые реакционные смеси «РеалБест Мастер микс ОТ» (АО «Вектор-Бест», Россия). Для реакции обратной транскрипции использовали: 3 мкл выделенной РНК, 25.5 мкл реакционной смеси для обратной транскрипции, 1.5 мкл 10 мкМ раствора соответствующего праймера для обратной транскрипции. Все олигонуклеотиды были синтезированы в АО «Вектор-Бест», Россия. Полученную реакционную смесь, содержащую кДНК в объеме 3 мкл, сразу использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, USA).

Измерение уровней экспрессии миРНК проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, USA). Реакцию проводили в объеме 30 мкл: 3 мкл полученной кДНК, 14 мкл H₂O, 3 мкл 10х буфера для ПЦР (АО «Вектор-Бест», Россия), 3 мкл 4 мМ раствора дезоксинуклеозидтрифосфатов, 3 мкл 10% раствора BSA, 1 мкл Taq-полимеразы (АО «Вектор-Бест», Россия) в комплексе с моноклональными антителами к ее активному центру (Clontech, США), 3 мкл раствора прямого и обратного праймеров (5 мкМ) и зонда (2.5 мкМ). Системы праймеров и зондов разработаны ком-

ting solution. Next, the tubes were placed in the thermo-shaker at a temperature of 65°C and incubated for 5 min at a rotational speed of 1300 rpm. Then centrifuged at 13 000–15 000 g for 1 min. The concentration of total RNA was measured on a NanoDrop 2000C Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). The RNA concentration of the isolated samples was in the range of 75.6–123.6 ng/μl.

The reverse transcription reaction to obtain complementary DNA (cDNA) was carried out in a volume of 30 μl. RealBest Master Mix OT reaction mixtures (Vector-Best, Russia) were used. For the reverse transcription reaction, the following was used: 3 μl of isolated RNA, 25.5 μl of the reaction mixture for reverse transcription, 1.5 μl of a 10 μM solution of the corresponding primer for reverse transcription. All oligonucleotides were synthesized at Vector-Best, Russia. The resulting reaction mixture containing cDNA in a volume of 3 μl was immediately used as a template for real-time PCR on a CFX96 device (Bio-Rad Laboratories, USA).

The levels of miRNA expression were measured by real-time PCR on a CFX96 amplifier (Bio-Rad Laboratories, USA). The reaction was carried out in a volume of 30 μl: 3 μl of the resulting cDNA, 14 μl of H₂O, 3 μl of 10× PCR buffer (Vector-Best, Russia), 3 μl of 4 mM deoxynucleoside triphosphate solution, 3 μl of 10% BSA solution, 1 μl of Taq-polymerase (Vector-Best, Russia) in complex with monoclonal antibodies to its active center (Clontech, USA), 3 μl of a solution of forward and reverse primers (5 μM) and a probe (2.5 μM). Primer and probe systems were developed by Vector-Best, the reaction efficiency is 90–100%. Analysis of the obtained data on real-time PCR threshold cycles was performed using the 2^{-ΔΔC_T} method [15].

The obtained data were statistically processed using the STATISTICA 12.0 software (StatSoft Inc., USA) with the calculation of the median (Me) and interquartile range (Q25; Q75). Comparison between groups was performed using the Mann-Whitney test. Statistical hypotheses were tested at a critical significance level of 0.05.

RESULTS

The accuracy of determining the variability of miRNAs is undoubtedly an important aspect in studying their role in biological processes. Normalization of expression levels provides an accurate quantification of PCR data and is necessary to exclude the influence of non-specific changes. One of the main difficulties in interpreting the obtained PCR data is the choice of a reference gene (RG). The RG

панией АО «Вектор-Бест», эффективность реакции составляет 90–100 %. Анализ полученных данных пороговых циклов ПЦР в реальном времени проводили методом $2^{-\Delta\Delta C_T}$ [15].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc., USA) с расчетом медианы (Me) и межквартильного диапазона (Q25; Q75). Сравнение между группами проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Точность определения вариабельности миРНК, несомненно, является важным аспектом при изучении их роли в биологических процессах. Нормировка уровней экспрессии обеспечивает точную количественную оценку данных ПЦР и необходима для исключения влияния неспецифических изменений. Одной из основных трудностей в интерпретации полученных данных ПЦР является выбор референсного гена (РГ). РГ должен обладать такими качествами, как минимальная вариабельность экспрессии между сравниваемыми подгруппами, стабильность при различных методах выделения и хранения РНК.

Для выбора РГ мы использовали алгоритм geNorm, позволяющий выявить наиболее стабильные гены в исследуемой выборке [15]. В качестве РГ рекомендуется использовать среднее геометрическое как минимум трех самых стабильных генов.

Методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени в 90 образцах плаценты измерены относительные уровни экспрессии следующих миРНК: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191 и U6. Наиболее оптимальным РГ в данном исследовании явилось среднее геометрическое из пороговых циклов флуоресценции трех миРНК: 92a, 20a и U6.

Распределение относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК в образцах плацент в трех сравниваемых группах, включая медианное значение и межквартильный диапазон, представлено на рис. 1. Значимость различий (p) относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК в образцах плацент между сравниваемыми группами продемонстрирована в табл. 1.

Наше исследование показало (см. рис. 1, табл. 1), что при ПР в образцах плацент отмечается статистически значимое увеличение уровней экспрессии миРНК-125b и миРНК-29b, а также статистически значимое снижение уровня

should have such qualities as minimal expression variability between the compared subgroups, stability in various methods of RNA isolation and storage.

To select the RG, we used the geNorm algorithm, which makes it possible to identify the most stable genes in the study sample [15]. As a RG, it is recommended to use the geometric mean of at least the three most stable genes.

Relative expression levels of the following miRNAs were measured in 90 placental samples by real-time reverse transcription PCR: 31, 100, 146, 150, 20a, 204, 221, 223, 1246, 128, let7a, 126, 451, 92a, 23a, 21, 125b, 26a, 29b, 191, and U6. The most optimal RG in this study was the geometric mean of the threshold fluorescence cycles of three miRNAs: 92a, 20a, and U6.

The distribution of relative expression levels of the studied miRNAs in placental samples in the three compared groups, including the median value and interquartile range, is shown in Fig. 1. The significance of differences (p) in the relative levels of expression of the studied miRNAs in placental samples between the compared groups is shown in Table 1.

Our study revealed (see Fig. 1, Table 1) that placental samples showed a statistically significant increase in the expression levels of miRNA-125b and miRNA-29b, as well as a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-451 compared with patients with timely delivery. At the same time, in PB with perinatal losses, a statistically significant decrease in miRNA-150 expression in the placenta was registered, and in the absence of perinatal losses, a statistically significant increase in miRNA-223 and miRNA-31 expression levels compared with placentas in timely delivery was noted. In addition, in PB with perinatal losses, compared with PB without perinatal losses, there is a statistically significantly lower level of expression of miRNA-221 and miRNA-223 in placentas.

DISCUSSION

The correct formation of the placenta is crucial for the normal course of pregnancy and fetal development. A small number of studies have been devoted to studying the expression profile of miRNAs involved in the regulation of molecular biological processes in the placenta [16–18]. At the same time, it is known that aberrant miRNA expression can contribute to disorders of proliferation, apoptosis, angiogenesis, and other biological processes [19–21].

Angiogenesis and vasculogenesis are controlled by numerous growth factors and cytokines, including vascular endothelial growth factor (VEGF), placenta

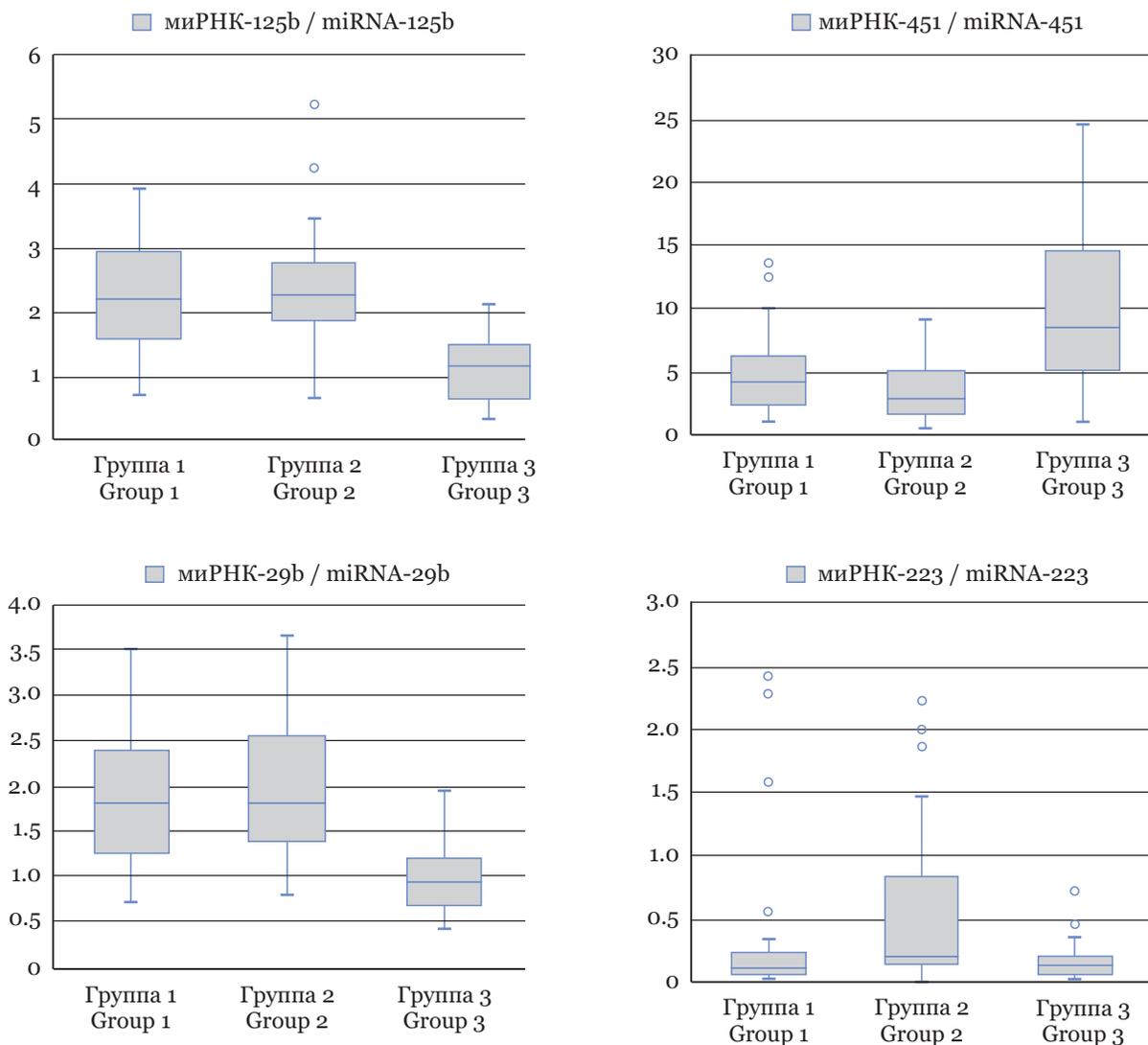


Рис. 1. Уровни экспрессии некоторых миРНК в образцах плаценты
Fig. 1. Expression levels of some miRNAs in placenta samples

экспрессии миРНК-451 по сравнению с пациентками при своевременных родах. Вместе с тем при ПР с перинатальными потерями зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии миРНК-150 в плаценте, а при отсутствии перинатальных потерь – статистически значимое увеличение уровня экспрессии миРНК-223 и миРНК-31 по сравнению с плацентами при своевременных родах. Кроме того, при ПР с перинатальными потерями по сравнению с ПР без перинатальных потерь отмечается статистически значимо более низкий уровень экспрессии миРНК-221 и миРНК-223 в плацентах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Правильное формирование плаценты имеет решающее значение для нормального течения беременности и развития плода. Изучению про-

growth factor (PlGF) and their receptors VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR. According to Barton et al. [22], PlGF levels are superior to clinical markers in predicting adverse pregnancy, and in particular PB, in women with suspected preeclampsia. At the same time, Alpini et al. [23] showed that PlGF is a target for miRNA-125b and an increased level of miRNA-125b expression contributes to a decrease in PlGF expression.

Recent studies [24] have established that miRNA-125b is a marker of vascular disease. Placental angiogenesis has been repeatedly considered as a target and a kind of model for developing methods for diagnosing and developing therapeutic effects in various variants of pregnancy pathology. At all stages of the formation and development of placental vessels, VEGF is considered to be a key marker of placental angiogenesis. During normal pregnancy, VEGF

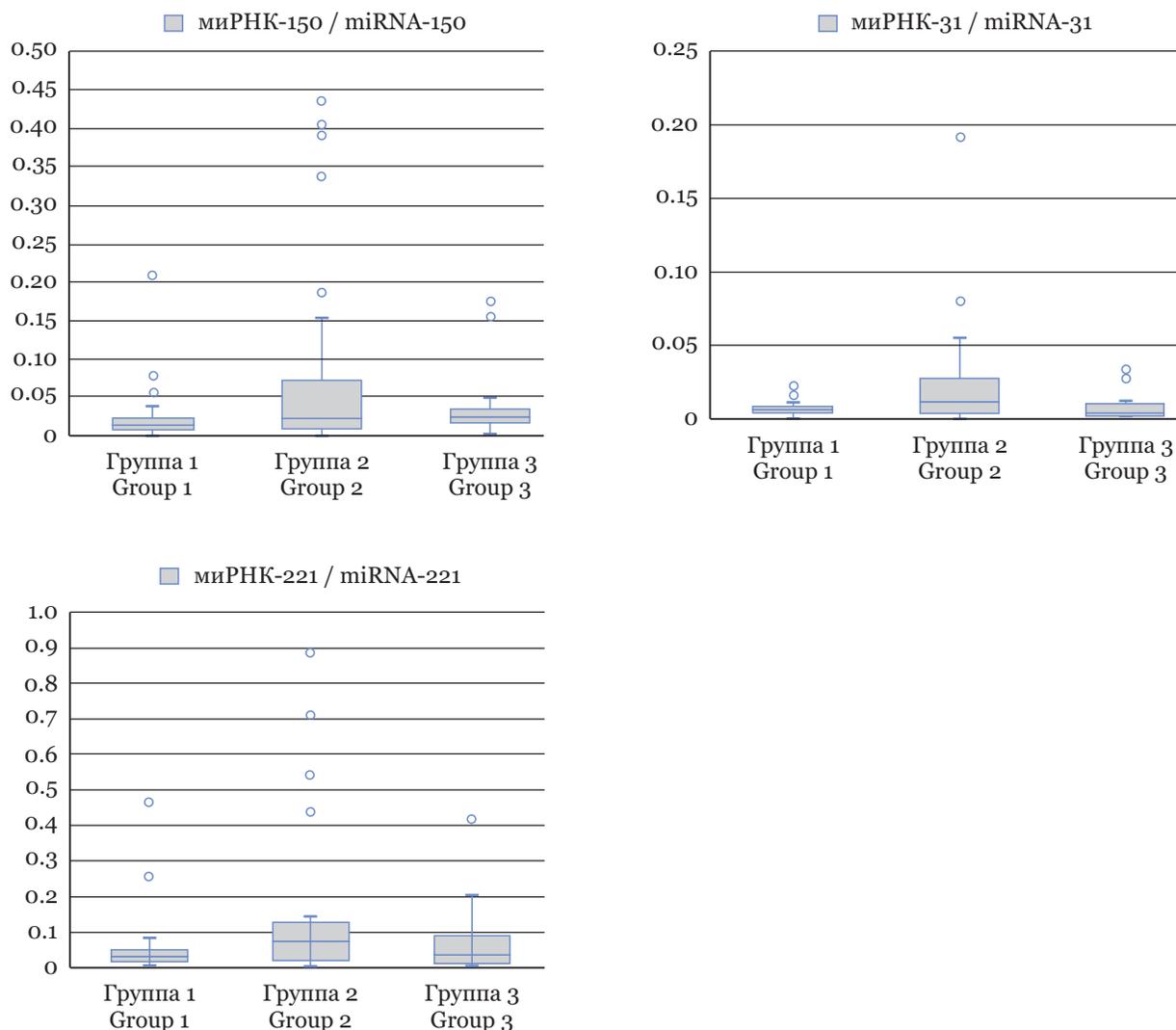


Рис. 1 (окончание). Уровни экспрессии некоторых миРНК в образцах плаценты
Fig. 1 (ending). Expression levels of some miRNAs in placenta samples

филия экспрессии миРНК, участвующих в регуляции молекулярно-биологических процессов, происходящих в плаценте, посвящено небольшое количество исследований [16–18]. В то же время известно, что aberrantная экспрессия миРНК может способствовать нарушению пролиферации, апоптоза, ангиогенеза и других биологических процессов [19–21].

Ангиогенез и васкулогенез контролируются многочисленными факторами роста и цитокинами, включая vascular endothelial growth factor (VEGF), placenta growth factor (PlGF) и их рецепторы VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR. По мнению J.R. Barton et al. [22], уровни PlGF превосходят клинические маркеры в прогнозировании неблагоприятной беременности, и в частности ПР, у женщин с подозрением на преэклампсию. При этом G. Alpini et al. [23] показали, что PlGF явля-

expression in the human placenta increases in proportion to gestational age [25]. A. Ray and B.K. Ray [26] showed that, in mammary gland cells, increased expression of miRNA-125b suppresses VEGF through the direct target of SAF-1. These results highlight the role of miRNA-125b as an anti-angiogenic regulator. This coincides with the opinion of Zhou et al. [27], who state that a high expression level of miRNA-125b suppresses angiogenesis. The same phenomenon, but with ovarian carcinoma, was also pointed out by Not et al. [28], who found that miRNA-199a and miRNA-125b suppress angiogenesis in tumor cells by suppressing the expression of HIF-1 α /VEGF.

According to the literature [29], miRNA-125b expression is significantly increased in patients with preeclampsia, both in placental tissues and in blood serum. It was shown that miRNA-125b promotes an

Таблица 1. Значимость различий относительных уровней экспрессии изучаемых миРНК между сравниваемыми группами (*p*)**Table 1.** The significance of differences in the relative expression levels of the studied miRNAs between the compared groups (*p*)

миРНК miRNA	1-я группа vs 3-я группа Group 1 vs group 3	2-я группа vs 3-я группа Group 2 vs group 3	1-я группа vs 2-я группа Group 1 vs group 2
31	0.672265	0.039289	0.059699
100	0.095495	0.981995	0.283414
146	1.000000	0.171263	0.189217
150	0.014200	0.603467	0.219448
204	0.290751	0.993998	0.506118
221	0.768826	0.077240	0.021329
223	0.982846	0.003203	0.016868
124b	0.768826	0.124443	0.104059
128	0.801903	0.815579	0.570889
let7a	0.971414	0.803912	0.894319
126	0.384938	0.723580	0.639305
451	0.001373	0.000018	0.059699
23a	0.425572	0.603467	0.774340
21	0.790835	0.301405	0.337071
125b	0.000001	0.000001	0.542659
26a	0.229677	0.186041	0.972114
29b	0.000001	0.000001	0.721339
191	0.495459	0.512346	0.828398

Примечание. Полужирным выделены статистически значимые различия.
Notes. Statistically significant differences are highlighted in bold.

ется мишенью для миРНК-125b и повышенный уровень экспрессии миРНК-125b способствует снижению экспрессии PlGF.

Исследованиями последних лет [24] установлено, что миРНК-125b является маркером сосудистых заболеваний. Плацентарный ангиогенез неоднократно рассматривался в качестве мишени и своеобразной модели для разработки методов диагностики и отработки терапевтических воздействий при различных вариантах патологии беременности. На всех этапах формирования и развития сосудов плаценты VEGF принято считать ключевым маркером плацентарного ангиогенеза. Во время нормальной беременности экспрессия VEGF в плаценте человека увеличивается пропорционально сроку беременности [25]. А. Ray, В.К. Ray [26] показали, что в клетках молочной железы повышенный уровень экспрессии миРНК-125b подавляет VEGF через прямую мишень SAF-1. Эти результаты подчеркивают роль миРНК-125b в качестве антиангиогенного регулятора. Это совпадает с мнением S. Zhou et al. [27], которые утверждают, что высокий уровень экспрессии миРНК-125b подавляет ангиогенез. На это же явление, но при карциноме яичников, указывали и J. He et al. [28], которые установили, что

increase in the level of IL-8 in trophoblast cells through its effect on the direct target of this cytokine SGPL1. In addition, it was found [30] that an increased level of miRNA-125b expression leads to impaired placentation due to the regulation of KCNA1 and inhibition of trophoblast invasion. In our study, we also note an increase in the expression level of miRNA-125b in the PB groups compared with childbirth without complications, which allows us to consider miRNA-125b one of the key participants in the pathogenesis of PB.

The mother's body adapts to the growing need of the fetus for glucose as the pregnancy progresses [31]. At the same time, one of the most important participants in the regulation of glucose metabolism at the placental level is glucose transporter type 1 (GLUT1) [32], and miRNA-125b is involved not only in the regulation of angiogenesis, but also in glycolysis [33]. Zhang et al. [34] showed that an increased level of miRNA-125b expression suppresses GLUT1 in papillary thyroid cancer cells. Current models of glucose transport across the placenta identify GLUT1 as the main glucose transporter. Aberrant expression of GLUT1 is observed in some pathological rearrangements of the placenta [35]. It was noted [36] that GLUT1 protein expression decreases in pre-eclampsia. Thus, an increased level of miRNA-125b

миРНК-199а и миРНК-125b подавляют ангиогенез в клетках опухоли за счет подавления экспрессии HIF-1 α /VEGF.

По данным литературы [29], у пациенток с преэклампсией значительно повышена экспрессия миРНК-125b, причем как локально в тканях плаценты, так и в сыворотке крови. При этом показано, что миРНК-125b способствует увеличению уровня IL-8 в клетках трофобласта через воздействие на прямую мишень этого цитокина SGPL1. Кроме того, установлено [30], что повышенный уровень экспрессии миРНК-125b приводит к нарушению плацентации за счет регуляции KCNA1 и ингибирования инвазии трофобласта. В нашем исследовании мы также отмечаем повышение уровня экспрессии миРНК-125b в группах ПР по сравнению с родами без осложнений, что позволяет считать миРНК-125b одним из ключевых участников патогенеза ПР.

Организм матери адаптируется к возрастающей потребности плода в глюкозе по мере развития беременности [31]. При этом одним из наиболее важных участников регуляции обмена глюкозы на плацентарном уровне является glucose transporter type 1 (GLUT1) [32], а миРНК-125b участвует не только в регуляции ангиогенеза, но и гликолиза [33]. G. Zhang et al. [34] показали, что в клетках папиллярного рака щитовидной железы повышенный уровень экспрессии миРНК-125b подавляет GLUT1. Современные модели транспорта глюкозы через плаценту определяют GLUT1 в качестве основного переносчика глюкозы. Аберрантная экспрессия GLUT1 наблюдается при некоторых патологических перестройках плаценты [35]. Отмечено [36], что экспрессия белка GLUT1 снижается при преэклампсии. Таким образом, повышенный уровень экспрессии миРНК-125b может способствовать снижению уровня GLUT1 в ткани плаценты, приводя к патологическим путям течения беременности, в частности, к ПР.

По нашим данным, уровень экспрессии миРНК-29b в группах ПР превышает одноименный показатель при своевременных родах. Сегодня роль миРНК-29b в развитии плаценты не ясна, однако в ряде исследований отражено значение этой миРНК в регуляции процессов ангиогенеза и метаболизма глюкозы, ассоциированных с беременностью и ростом плода. Так, W. Tang et al. [37] установили, что миРНК-29b является супрессором ангиогенеза, способствует апоптозу и ингибирует инвазию клеток трофобласта. Авторы отмечают, что мишенями для миРНК-29b являются MCL-1 (myeloid cell

expression can contribute to a decrease in the level of GLUT1 in the placental tissue, leading to pregnancy failure, in particular, to PB.

According to our data, the expression level of miRNA-29b in the PB groups exceeds that of the same indicator in timely delivery. Today, the role of miRNA-29b in the development of the placenta is not clear; however, a number of studies reflect the importance of this miRNA in the regulation of angiogenesis and glucose metabolism processes associated with pregnancy and fetal growth. Thus, Tang et al. [37] found that miRNA-29b is an angiogenesis suppressor, it promotes apoptosis, and inhibits invasion of trophoblast cells. The authors note that the targets for miRNA-29b are MCL-1 (myeloid cell leukaemia sequence 1), MMP2 (encoding matrix metalloproteinase 2), VEGFA, and ITGB1 (integrin β 1). Teng et al. [38] believe that miRNA-29b is a negative regulator of glucose metabolism. At the same time, according to Dini et al. [39], all members of the miRNA family are potential regulators of glucose transporters (GLUTs) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1).

In addition to miRNA-125b, other miRNAs are also involved in the regulation of glycolysis in organs and tissues. Thus, studies of osteosarcoma cells showed [40] that the intensity of GLUT1 expression in them is regulated by miRNA-150. Guo et al. [41] found that glucose metabolism in glioma cells is controlled by miRNA-451 through the LKB1/AMPK/PI3K/AKT pathway regulating GLUT1 metabolism, which ultimately leads to inhibition of glucose metabolism. In our material, we found a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-150 in the placentas of women with PB and perinatal losses and a trend towards a decrease in the level of miRNA-150 expression in cases of PB without perinatal losses. In addition, we observed a statistically significant decrease in the expression level of miRNA-451 in all PB groups in comparison with timely delivery. Thus, a decrease in the expression level of miRNA-150 and miRNA-451 may contribute to an increase in the GLUT1 pool, which, in turn, reflects a shift in sugar metabolism towards an increase in the intensity of glucose intake into the placenta [42].

Sanders et al. [43] indicate an increase in miRNA-223 expression in cervical epithelial cells in women with the earlier pregnancy. According to our data, there is also an increase in the expression level of miRNA-223 in patients of the PB group without perinatal losses in comparison with the parameter of the same name in timely delivery, although we studied placental tissue. Therefore, it can be assumed that

leukaemia sequence 1), MMP2 (encoding matrix metalloproteinase 2), VEGFA и ITGB1 (integrin β 1). Y. Teng et al. [38] полагают, что miРНК-29b является негативным регулятором метаболизма глюкозы. При этом, по данным S. Dini et al. [39], все члены семейства miРНК являются потенциальными регуляторами glucose transporters (GLUTs) и insulin-like growth factor-1 (IGF-1).

В регуляции гликолиза в органах и тканях помимо miРНК-125b принимают участие и другие miРНК. Так, при изучении клеток остеосаркомы показано [40], что интенсивность экспрессии GLUT1 в них регулируется miРНК-150. H. Guo et al. [41] установили, что обмен глюкозы в клетках глиомы контролируется miРНК-451 через путь LKB1/AMPK/PI3K/AKT, который регулирует метаболизм GLUT1, что в итоге приводит к ингибированию метаболизма глюкозы. На нашем материале мы обнаружили статистически значимое снижение уровня экспрессии miРНК-150 в плацентах женщин с ПР и перинатальными потерями и тенденцию к снижению уровня экспрессии miРНК-150 в случаях ПР без перинатальных потерь. Кроме этого, мы наблюдали статистически значимое снижение уровня экспрессии miРНК-451 во всех группах ПР в сравнении со своевременными родами. Таким образом, снижение уровня экспрессии miРНК-150 и miРНК-451 может способствовать увеличению представительства GLUT1, что, в свою очередь, отражает смещение метаболизма сахаров в сторону повышения интенсивности поступления глюкозы в плаценту [42].

A.P. Sanders et al. [43] указывают на повышение уровня экспрессии miРНК-223 в эпителиоцитах шейки матки у женщин с более ранним сроком беременности. По нашим данным, также отмечается увеличение уровня экспрессии miРНК-223 у пациенток группы ПР без перинатальных потерь в сравнении с одноименным параметром при своевременных родах, хотя мы изучали плацентарную ткань. Следовательно, можно предположить, что miРНК-223 является одним из ключевых эпигенетических регуляторов в различных тканях при беременности. Вместе с тем мы не наблюдали увеличения уровня экспрессии miРНК-223 в группе ПР с перинатальными потерями в сравнении со своевременными родами, что может быть связано как с объемом и гетерогенностью исследуемой выборки, так и с фактом возможного вовлечения miРНК-223 в каскад генетических изменений, вызывающих гибель плода.

Мы наблюдали статистически значимое увеличение уровня экспрессии miРНК-31 в группе

miРНК-223 is one of the key epigenetic regulators in various tissues during pregnancy. At the same time, we did not observe an increase in the expression level of miРНК-223 in the PB group with perinatal losses in comparison with timely delivery, which may be due both to the size and heterogeneity of the study sample, and to the fact that miРНК-223 may be involved in the cascade of genetic changes causing fetal death.

We observed a statistically significant increase in miРНК-31 expression in the PB group without perinatal losses. Kim et al. [44] showed that TNF α and miR-31-5p are negative regulators of angiogenesis and trophoblastic invasion in an *ex vivo* cultured model of human placental arterial vessels, which is a typical feature of preeclampsia. The interaction between endothelial cells and endovascular trophoblasts, according to the authors, is critical for successful trophoblast invasion and placental blood flow. These data may indicate the place of miРНК-31 in the group of angiogenesis regulators.

When analyzing placental samples in groups, we obtained results indicating a statistically significant decrease in the level of miРНК-221 expression in the PB group with perinatal losses compared to the PB group without perinatal losses. According to Hu et al. [45], the expression level of miРНК-221 increases with the development of the placenta, and its target is DDIT4, which is involved in the development of the nervous system of the embryo. Ji and Liu [46] note that the miРНК-221/222 cluster can promote apoptosis of human trophoblastic cells and placental dysfunction by suppressing the expression of the apoptosis-inhibiting protein bcl-2. At the same time, it was shown experimentally [47] that the expression level of miРНК-221 decreases in rat placental tissues during pregnancy and negatively correlates with the level of glucose in the blood of animals. The authors note that to date, the exact mechanism by which miРНК-221 can affect PB is not known, but there is no doubt that this miРНК is placenta-specific and is involved in the regulation of its development.

CONCLUSION

Aberrant expression levels of miРНК-125b, miРНК-29b, and miРНК-451 in the placentas of patients with premature birth indicate their involvement in the pathogenesis of the latter, apparently due to impaired regulation of angiogenesis, apoptosis, trophoblast invasion, and glucose metabolism.

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

ПР без перинатальных потерь. S. Kim et al. [44] показали, что TNF α и miR-31-5p являются негативными регуляторами ангиогенеза и трофобластической инвазии на культивируемой *ex vivo* модели плацентарных артериальных сосудов человека, что является типичным признаком преэклампсии. Взаимодействие между эндотелиальными клетками и эндovasкулярными трофобластами, по мнению авторов, имеет решающее значение для успешной инвазии трофобласта и плацентарного кровотока. Эти данные могут указывать на место miRНК-31 в группе регуляторов ангиогенеза.

При анализе образцов плаценты в группах мы получили результаты, свидетельствующие о статистически достоверном снижении уровня экспрессии miRНК-221 в группе ПР с перинатальными потерями по сравнению с группой ПР без перинатальных потерь. По данным В. Hu et al. [45], уровень экспрессии miRНК-221 увеличивается по мере развития плаценты, а ее мишенью является DDIT4, участвующий в развитии нервной системы эмбриона. L.X. Ji, J. Liu [46] отмечают, что кластер miRНК-221/222 может способствовать апоптозу трофобластических клеток

человека и дисфункции плаценты за счет подавления экспрессии белка, ингибирующего апоптоз bcl-2. При этом в эксперименте показано [47], что уровень экспрессии miRНК-221 снижается в тканях плаценты крыс при развитии беременности и отрицательно коррелирует с уровнем глюкозы в крови животных. Авторы отмечают, что на сегодняшний день не известно точного механизма, с помощью которого miRНК-221 может влиять на ПР, однако не вызывает сомнения, что эта miRНК является плацента-специфичной и участвует в регуляции ее развития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аберрантные значения уровней экспрессии miRНК-125b, miRНК-29b и miRНК-451 в плацентах пациенток с преждевременными родами свидетельствуют об их участии в патогенезе последних, по-видимому, за счет нарушения регуляции процессов ангиогенеза, апоптоза, инвазии трофобласта и метаболизма глюкозы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Щеголев А.И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты // Акушерство и гинекология. 2016;4:16–23. doi: 10.18565/aig.2016.4.16-23.
2. Robbins J.R., Bakardjiev A.I. Pathogens and the placental fortress // *Curr. Opin. Microbiol.* 2012;15(1):36–43. doi: 10.1016/j.mib.2011.11.006.
3. Щеголев А.И., Серов В.Н. Клиническая значимость поражений плаценты // Акушерство и гинекология. 2019;3:54–62. doi: 10.18565/aig.2019.3.54-62.
4. Низяева Н.В. Гистологические критерии воспалительных изменений плодных оболочек, плаценты и пуповины // *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований.* 2018;3:180–188. doi: 10.17513/mjfi.12172.
5. Fromm B., Domanska D., Høye E. et al. MirGeneDB 2.0: the metazoan microRNA complement // *Nucleic Acids Res.* 2020;8:48(D1):D132–D141. doi: 10.1093/nar/gkz885.
6. Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Романова А.А., Логвинов С.В. МикроРНК и преждевременная овариальная недостаточность // Акушерство и гинекология. 2020;1:40–46. doi: 10.18565/aig.2020.1.40-46.
7. Ardekani A.M., Naeini M.M. The role of microRNAs in human diseases // *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2010;2(4):161–179.
8. Ali A., Hadlich F., Abbas M.W. et al. MicroRNA-mRNA networks in pregnancy complications: a comprehensive downstream analysis of potential biomarkers // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(5):2313. doi: 10.3390/ijms22052313.

REFERENCES

1. Shchegolev A.I. Current morphological classification of damages to the placenta. *Obstetrics and Gynecology.* 2016;4:16–23. doi: 10.18565/aig.2016.4.16-23. (In Russ.)
2. Robbins J.R., Bakardjiev A.I. Pathogens and the placental fortress. *Curr. Opin. Microbiol.* 2012;15(1):36–43. doi: 10.1016/j.mib.2011.11.006.
3. Shchegolev A.I., Serov V.N. Clinical significance of placental lesions. *Obstetrics and Gynecology.* 2019;3:54–62. doi: 10.18565/aig.2019.3.54-62. (In Russ.)
4. Nizyaeva N.V. Histological criteria of inflammatory diseases of placenta membranes and umbilical cord. *International Journal of Applied and Basic Research.* 2018;3:180–188. doi: 10.17513/mjfi.12172. (In Russ.)
5. Fromm B., Domanska D., Høye E. et al. MirGeneDB 2.0: the metazoan microRNA complement. *Nucleic Acids Res.* 2020;8:48(D1):D132–D141. doi: 10.1093/nar/gkz885.
6. Dmitrieva M.L., Tikhonovskaya O.A., Romanova A.A., Logvinov S.V. MicroRNAs and premature ovarian insufficiency. *Obstetrics and Gynecology.* 2020;1:40–46. doi: 10.18565/aig.2020.1.40-46. (In Russ.)
7. Ardekani A.M., Naeini M.M. The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2010;2(4):161–179.
8. Ali A., Hadlich F., Abbas M.W. et al. MicroRNA-mRNA networks in pregnancy complications: a comprehensive downstream analysis of potential biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(5):2313. doi: 10.3390/ijms22052313.
9. Gu Y., Sun J., Groome L.J., Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third

9. Gu Y., Sun J., Groome L.J., Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013;304(8):E836–E843. doi: 10.1152/ajpendo.00660.2012.
10. Donker R.B., Mouillet J.F., Chu T. et al. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes // *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(8):417–424. doi: 10.1093/molehr/gas013.
11. Гусар В.А., Тимофеева А.В., Кан Н.Е. и др. Профиль экспрессии плацентарных микроРНК – регуляторов окислительного стресса при синдроме задержки роста плода // *Акушерство и гинекология.* 2019;1:74–80. doi: 10.18565/aig.2019.1.74-80.
12. Hromadnikova I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction // *PLoS One.* 2015;10(9):e0138383. doi: 10.1371/journal.pone.0138383.
13. Низяева Н.В., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. и др. МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии // *Вестн. РАМН.* 2015;70(4):484–492. doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416.
14. *Histopathology Specimens. Clinical, Pathological and Laboratory Aspects* / ed. by D.C. Allen, R.I. Cameron. Springer, 2013.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method // *Methods.* 2001;25(4):402. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Низяева Н.В. Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2021. 48 с.
17. Hosseini M.K., Gunel T., Gumusoglu E., Benian A., Aydini K. MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss // *Mol. Med. Rep.* 2018;17(4):4941–4952. doi: 10.3892/mmr.2018.8530.
18. Xu P., Zhao Y., Liu M. et al. Variations of microRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy // *Hypertension.* 2014;63(6):1276–1284. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647.
19. Pileczki V., Cojocneanu-Petric R., Maralani M., Neagoe I.B., Sandulescu R. MicroRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer // *Clujul. Med.* 2016;89(1):50–55. doi: 10.15386/cjmed-512.
20. Landskroner-Eiger S., Moneke I., Sessa W.C. miRNAs as modulators of angiogenesis // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013;3(2):a006643. doi: 10.1101/cshperspect.a006643.
21. Lenkala D., LaCroix B., Gamazon E.R. et al. The impact of microRNA expression on cellular proliferation // *Hum. Genet.* 2014;133(7):931–938. doi: 10.1007/s00439-014-1434-4.
22. Barton J.R., Woelkers D.A., Newman R.B. et al. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;222(3):259.e1–259.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2019.09.003.
23. Alpmi G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepatotri- trimester human placentas. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013;304(8):E836–E843. doi: 10.1152/ajpendo.00660.2012.
10. Donker R.B., Mouillet J.F., Chu T. et al. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes. *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(8):417–424. doi: 10.1093/molehr/gas013.
11. Gusar V.A., Timofeeva A.V., Kan N.E. et al. The expression profile of placental microRNAs as regulators of oxidative stress in fetal growth restriction. *Obstetrics and Gynecology.* 2019;1:74–80. doi: 10.18565/aig.2019.1.74-80. (In Russ.)
12. Hromadnikova I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138383. doi: 10.1371/journal.pone.0138383.
13. Nizyaeva N.V., Kan N.E., Tyutyunnik V.L. et al. MicroRNAs as an important precursors of diagnostic obstetric pathology. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(4):484–492. doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416. (In Russ.)
14. Allen D.C., Cameron R.I. (eds.) (2013). *Histopathology Specimens. Clinical, Pathological and Laboratory Aspects.* Springer.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods.* 2001;25(4):402. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Nizyaeva N.V. (2021). Morphological and molecular genetic characteristics of placental lesions and their role in the pathogenesis of preeclampsia. Dr. Sci. (Med.) thesis. Moscow. 48 p. (In Russ.)
17. Hosseini M.K., Gunel T., Gumusoglu E., Benian A., Aydini K. MicroRNA expression profiling in placenta and maternal plasma in early pregnancy loss. *Mol. Med. Rep.* 2018;17(4):4941–4952. doi: 10.3892/mmr.2018.8530.
18. Xu P., Zhao Y., Liu M. et al. Variations of microRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy. *Hypertension.* 2014;63(6):1276–1284. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647.
19. Pileczki V., Cojocneanu-Petric R., Maralani M., Neagoe I.B., Sandulescu R. MicroRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer. *Clujul. Med.* 2016;89(1):50–55. doi: 10.15386/cjmed-512.
20. Landskroner-Eiger S., Moneke I., Sessa W.C. miRNAs as modulators of angiogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2013;3(2):a006643. doi: 10.1101/cshperspect.a006643.
21. Lenkala D., LaCroix B., Gamazon E.R. et al. The impact of microRNA expression on cellular proliferation. *Hum. Genet.* 2014;133(7):931–938. doi: 10.1007/s00439-014-1434-4.
22. Barton J.R., Woelkers D.A., Newman R.B. et al. Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;222(3):259.e1–259.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2019.09.003.
23. Alpini G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepato-

23. Alpini G., Glaser S.S., Zhang J.P. et al. Regulation of placenta growth factor by microRNA-125b in hepatocellular cancer // *J. Hepatol.* 2011;55(6):1339–1345. doi: 10.1016/j.jhep.2011.04.015.
24. Chao C.T., Yeh H.Y., Yuan T.H. et al. MicroRNA-125b in vascular diseases: An updated systematic review of pathogenetic implications and clinical applications // *J. Cell Mol. Med.* 2019;23(9):5884–5894. doi: 10.1111/jcmm.14535.
25. Chen D.B., Zheng J. Regulation of placental angiogenesis // *Microcirculation.* 2014;21(1):15–25. doi: 10.1111/micc.12093.
26. Ray A., Ray B.K. Suppression of vascular endothelial growth factor expression in breast cancer cells by microRNA-125b-mediated attenuation of serum amyloid A activating factor-1 level // *Oncoscience.* 2019;6(5-6):337–348. doi: 10.18632/oncoscience.483.
27. Zhou S., Zhang P., Liang P., Huang X. The expression of miRNA-125b regulates angiogenesis during the recovery of heat-denatured HUVECs // *Burns.* 2015;41(4):803–811. doi:10.1016/j.burns.2014.10.012.
28. He J., Jing Y., Li W. et al. Roles and mechanism of miR-199a and miR-125b in tumor angiogenesis // *PLoS One.* 2013;8(2):e56647. doi: 10.1371/journal.pone.0056647.
29. Yang W., Wang A., Zhao C. et al. miR-125b enhances IL-8 production in early-onset severe preeclampsia by targeting sphingosine-1-phosphate lyase 1 // *PLoS One.* 2016;11(12):e0166940. doi: 10.1371/journal.pone.0166940.
30. Li Q., Han Y., Xu P. et al. Elevated microRNA-125b inhibits cytotrophoblast invasion and impairs endothelial cell function in preeclampsia // *Cell Death Discov.* 2020;13(6):35. doi: 10.1038/s41420-020-0269-0.
31. Kalhan S., Rossi K., Gruca L., Burkett E., O'Brien A. Glucose turnover and gluconeogenesis in human pregnancy // *J. Clin. Invest.* 1997;100(7):1775–1781. doi: 10.1172/JCI119704.
32. Ermini L., Nuzzo A.M., Ietta F. et al. Placental glucose transporters and response to bisphenol A in pregnancies from of normal and overweight mothers // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(12):6625. doi: 10.3390/ijms22126625.
33. Huang Y.F., Zhang Y., Liu C.X., Huang J., Ding G.H. microRNA-125b contributes to high glucose-induced reactive oxygen species generation and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells by targeting angiotensin-converting enzyme 2 // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20(19):4055–4062.
34. Zhang G., Zhou S., Yang Q., Liu F. MicroRNA-125b reduces glucose uptake in papillary thyroid carcinoma cells // *Oncol. Lett.* 2020;20(3):2806–2810. doi: 10.3892/ol.2020.11832.
35. Illsley N.P., Baumann M.U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(2):165359. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.12.010.
36. Lüscher B.P., Marini C., Joerger-Messerli M.S. et al. Placental glucose transporter (GLUT)-1 is down-regulated in preeclampsia // *Placenta.* 2017;55:94–99. doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.023.
37. Tang W., Guo J., Gu R. et al. MicroRNA-29b-3p inhibits cell proliferation and angiogenesis by targeting VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells. *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.
- cellular cancer. *J. Hepatol.* 2011;55(6):1339–1345. doi: 10.1016/j.jhep.2011.04.015.
24. Chao C.T., Yeh H.Y., Yuan T.H. et al. MicroRNA-125b in vascular diseases: An updated systematic review of pathogenetic implications and clinical applications. *J. Cell Mol. Med.* 2019;23(9):5884–5894. doi: 10.1111/jcmm.14535.
25. Chen D.B., Zheng J. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation.* 2014;21(1):15–25. doi: 10.1111/micc.12093.
26. Ray A., Ray B.K. Suppression of vascular endothelial growth factor expression in breast cancer cells by microRNA-125b-mediated attenuation of serum amyloid A activating factor-1 level. *Oncoscience.* 2019;6(5-6):337–348. doi: 10.18632/oncoscience.483.
27. Zhou S., Zhang P., Liang P., Huang X. The expression of miRNA-125b regulates angiogenesis during the recovery of heat-denatured HUVECs. *Burns.* 2015;41(4):803–811. doi:10.1016/j.burns.2014.10.012.
28. He J., Jing Y., Li W. et al. Roles and mechanism of miR-199a and miR-125b in tumor angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8(2):e56647. doi: 10.1371/journal.pone.0056647.
29. Yang W., Wang A., Zhao C. et al. miR-125b enhances IL-8 production in early-onset severe preeclampsia by targeting sphingosine-1-phosphate lyase 1. *PLoS One.* 2016;11(12):e0166940. doi: 10.1371/journal.pone.0166940.
30. Li Q., Han Y., Xu P. et al. Elevated microRNA-125b inhibits cytotrophoblast invasion and impairs endothelial cell function in preeclampsia. *Cell Death Discov.* 2020;13(6):35. doi: 10.1038/s41420-020-0269-0.
31. Kalhan S., Rossi K., Gruca L., Burkett E., O'Brien A. Glucose turnover and gluconeogenesis in human pregnancy. *J. Clin. Invest.* 1997;100(7):1775–1781. doi: 10.1172/JCI119704.
32. Ermini L., Nuzzo A.M., Ietta F. et al. Placental glucose transporters and response to bisphenol A in pregnancies from of normal and overweight mothers. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(12):6625. doi: 10.3390/ijms22126625.
33. Huang Y.F., Zhang Y., Liu C.X., Huang J., Ding G.H. microRNA-125b contributes to high glucose-induced reactive oxygen species generation and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells by targeting angiotensin-converting enzyme 2. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016;20(19):4055–4062.
34. Zhang G., Zhou S., Yang Q., Liu F. MicroRNA-125b reduces glucose uptake in papillary thyroid carcinoma cells. *Oncol. Lett.* 2020;20(3):2806–2810. doi: 10.3892/ol.2020.11832.
35. Illsley N.P., Baumann M.U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(2):165359. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.12.010.
36. Lüscher B.P., Marini C., Joerger-Messerli M.S. et al. Placental glucose transporter (GLUT)-1 is down-regulated in preeclampsia. *Placenta.* 2017;55:94–99. doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.023.
37. Tang W., Guo J., Gu R. et al. MicroRNA-29b-3p inhibits cell proliferation and angiogenesis by targeting VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells. *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.

- VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells // *Mol. Vis.* 2020;26:64–75.
38. Teng Y., Zhang Y., Qu K. et al. MicroRNA-29B (mir-29b) regulates the Warburg effect in ovarian cancer by targeting AKT2 and AKT3 // *Oncotarget.* 2015;6(38):40799–40814. doi: 10.18632/oncotarget.5695.
 39. Dini S., Zakeri M., Ebrahimpour S., Dehghanian T., Esmaeli A. Quercetin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles modulate glucose metabolism-related genes and miR-29 family in the hippocampus of diabetic rats // *Sci. Rep.* 2021;11(1):8618. doi: 10.1038/s41598-021-87687-w.
 40. Yuan G., Zhao Y., Wu D., Gao Ch. Mir-150 up-regulates Glut1 and increases glycolysis in osteosarcoma cells // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017;18(4):1127–1131. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.4.1127.
 41. Guo H., Nan Y., Zhen Y. et al. miRNA-451 inhibits glioma cell proliferation and invasion by downregulating glucose transporter 1 // *Tumour Biol.* 2016;37(10):13751–13761. doi: 10.1007/s13277-016-5219-3.
 42. Langdown M.L., Sugden M.C. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation // *Mol. Cell Endocrinol.* 2001;185(1–2):109–117. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00629-3.
 43. Sanders A.P., Burris H.H., Just A.C. et al. microRNA expression in the cervix during pregnancy is associated with length of gestation // *Epigenetics.* 2015;10(3):221–228. doi: 10.1080/15592294.2015.1006498.
 44. Kim S., Lee K.S., Choi S. et al. NF- κ B-responsive miRNA-31-5p elicits endothelial dysfunction associated with preeclampsia via down-regulation of endothelial nitric-oxide synthase // *J. Biol. Chem.* 2018;293(49):18989–19000. doi: 10.1074/jbc.RA118.005197.
 45. Hu B., Xu G., Tang J. et al. microRNA221 is involved in human placental development by targeting DDIT4 // *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;52(2):254–262. doi: 10.33594/000000019.
 46. Ji L.X., Liu J. MicroRNA-221/222 participates in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy via promoting the apoptosis of human placental trophoblast HTR-8 cells // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2018;26(8):607–611. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.08.009. (In Chinese)
 47. Zhao H., Tao S. MiRNA-221 protects islet β cell function in gestational diabetes mellitus by targeting PAK1 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;520(1):218–224. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.09.139.
 38. Teng Y., Zhang Y., Qu K. et al. MicroRNA-29B (mir-29b) regulates the Warburg effect in ovarian cancer by targeting AKT2 and AKT3. *Oncotarget.* 2015;6(38):40799–40814. doi: 10.18632/oncotarget.5695.
 39. Dini S., Zakeri M., Ebrahimpour S., Dehghanian T., Esmaeli A. Quercetin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles modulate glucose metabolism-related genes and miR-29 family in the hippocampus of diabetic rats. *Sci. Rep.* 2021;11(1):8618. doi: 10.1038/s41598-021-87687-w.
 40. Yuan G., Zhao Y., Wu D., Gao Ch. Mir-150 up-regulates Glut1 and increases glycolysis in osteosarcoma cells. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017;18(4):1127–1131. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.4.1127.
 41. Guo H., Nan Y., Zhen Y. et al. miRNA-451 inhibits glioma cell proliferation and invasion by downregulating glucose transporter 1. *Tumour Biol.* 2016;37(10):13751–13761. doi: 10.1007/s13277-016-5219-3.
 42. Langdown M.L., Sugden M.C. Enhanced placental GLUT1 and GLUT3 expression in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Mol. Cell Endocrinol.* 2001;185(1–2):109–117. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00629-3.
 43. Sanders A.P., Burris H.H., Just A.C. et al. microRNA expression in the cervix during pregnancy is associated with length of gestation. *Epigenetics.* 2015;10(3):221–228. doi: 10.1080/15592294.2015.1006498.
 44. Kim S., Lee K.S., Choi S. et al. NF- κ B-responsive miRNA-31-5p elicits endothelial dysfunction associated with preeclampsia via down-regulation of endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 2018;293(49):18989–19000. doi: 10.1074/jbc.RA118.005197.
 45. Hu B., Xu G., Tang J. et al. microRNA221 is involved in human placental development by targeting DDIT4. *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;52(2):254–262. doi: 10.33594/000000019.
 46. Ji L.X., Liu J. MicroRNA-221/222 participates in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy via promoting the apoptosis of human placental trophoblast HTR-8 cells. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2018;26(8):607–611. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.08.009. (In Chinese)
 47. Zhao H., Tao S. MiRNA-221 protects islet β cell function in gestational diabetes mellitus by targeting PAK1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;520(1):218–224. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.09.139.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Казачков Евгений Леонидович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-4512-3421.

Семёнов Юрий Алексеевич – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-3268-7981.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny L. Kazachkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4512-3421.

Yuri A. Semenov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3268-7981.

Yulia A. Veryaskina – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Веряскина Юлия Андреевна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Казачкова Элла Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-1672-7058.

Чижовская Анна Валерьевна – аспирант кафедры патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0003-1574-1613.

Ella A. Kazachkova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1672-7058.

Anna V. Chizhovskaya – Graduate, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1574-1613.



Изучение химического состава надземной части щавеля приморского (*Rumex maritimus* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

В.В. Подгурская, Е.А. Лукша, И.А. Савченко, И.Н. Корнеева, Е.В. Иванова, А.М. Калиниченко

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е. Щавель приморский (*Rumex maritimus* L.) – малоизученное однолетнее растение из семейства гречишные (Polygonaceae Juss.), применяемое народами Юго-Восточной Азии для лечения ряда заболеваний. У метанольного экстракта щавеля приморского установлено наличие ряда ценных свойств, в том числе антибактериальной активности. При этом химический состав растения изучен фрагментарно.

Ц е л ь. Определение качественного состава надземной части щавеля приморского методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы. Высушенную надземную часть растения в стадии цветения и начала плодоношения измельчали и экстрагировали 95% этанолом. Этанол отгоняли и последовательно обрабатывали извлечение хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом. Полученные фракции и водный остаток этанольного извлечения после удаления растворителей анализировали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ. Идентификацию соединений проводили, используя стандартные образцы и литературные данные о спектральных характеристиках веществ.

Р е з у л ь т а т ы. Фитохимический анализ надземной части щавеля приморского методом обращенно-фазовой ВЭЖХ показал наличие веществ классов антрахинонов, флавоноидов, стильбенов, фенолоксилов. В хлороформной фракции идентифицированы антраценпроизводные эмодин, хризофанол, фисцион, изохризофанол, флавоноид вогелетин; в этилацетатной фракции – фенолоксиловы: галловая, сиреневая, *n*-кумаровая, феруловая, производное транс-стильбена ресвератрол, а также флавоноиды рутин и кверцетин; в бутанольной фракции – кофейная кислота и катехин; в водном остатке – эпигаллокатехин-3-галлат и эпикатехин-3-галлат.

З а к л ю ч е н и е. В надземной части щавеля приморского впервые установлено наличие галловой, сиреневой, *n*-кумаровой, феруловой, кофейной кислот, ресвератрола, катехина, эпигаллокатехин-3-галлата, эпикатехин-3-галлата.

Ключевые слова: гречишные, хроматография, антрахиноны, флавоноиды, фенолоксиловы, стильбены.

Образец цитирования: Подгурская В.В., Лукша Е.А., Савченко И.А., Корнеева И.Н., Иванова Е.В., Калиниченко А.М. Изучение химического состава надземной части щавеля приморского (*Rumex maritimus* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):38–45. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-38-45

The study of the chemical composition of the aerial part of golden dock (*Rumex maritimus* L.) by high-performance liquid chromatography

V.V. Podgurskaya, E.A. Luksha, I.A. Savchenko, I.N. Korneeva, E.V. Ivanova, A.M. Kalinichenko

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Golden dock (*Rumex maritimus* L.) is a poorly studied annual plant from the buckwheat family (Polygonaceae Juss.), used by the peoples of South-East Asia to treat a number of diseases. The methanol extract of golden

Поступила в редакцию 21.07.2021
Прошла рецензирование 24.09.2021
Принята к публикации 13.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Подгурская Вера Викторовна: ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12.
E-mail: verapodgurskaya@mail.ru

Received 21.07.2021
Revised 24.09.2021
Accepted 13.10.2021

Corresponding author
Vera V. Podgurskaya: Omsk State Medical University, 12, Lenina str., Omsk, 644099, Russia.
E-mail: verapodgurskaya@mail.ru

dock has several beneficial properties, including antibacterial activity. At the same time, the chemical composition of the plant is studied fragmentarily.

Aim. To determine the qualitative composition of the aerial part of golden dock by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Materials and Methods. The dried aerial part of the plant at the stage of flowering and the beginning of fruiting was crushed and extracted with 95% ethanol. Ethanol was distilled off, and the extraction was treated sequentially with chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol. We analyzed the obtained fractions and the aqueous residue of ethanol extraction after removal by reversed-phase HPLC. Compounds were identified using standard samples and literature data on the spectral characteristics of substances.

Results. Phytochemical analysis of the aerial part of golden dock by reversed-phase HPLC showed the presence of such substances as anthraquinones, flavonoids, stilbenes, phenolic acids. In the chloroform fraction, anthracene derivatives of emodin, chrysophanol, fission, isochrysophanol, the flavonoid vogetin were identified; in the ethyl acetate fraction – phenolic acids: gallic, syringic, *p*-coumaric, ferulic, trans-stilbene derivative resveratrol, as well as the flavonoids rutin and quercetin; in the butanol fraction – caffeic acid and catechin; in the aqueous residue – epigallocatechin-3-gallate and epicatechin-3-gallate.

Conclusion. The presence of gallic, syringic, *p*-coumaric, ferulic, caffeic acids, resveratrol, catechin, epigallocatechin-3-gallate, and epicatechin-3-gallate was first established in the aerial part of golden dock.

Keywords: Polygonaceae, chromatography, anthraquinones, flavonoids, phenolic acids, stilbenes.

Citation example: Podgurskaya V.V., Luksha E.A., Savchenko I.A., Korneeva I.N., Ivanova E.V., Kalinichenko A.M. The study of the chemical composition of the aerial part of golden dock (*Rumex maritimus* L.) by high-performance liquid chromatography. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):38–45. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-38-45

ВВЕДЕНИЕ

Щавель приморский (*Rumex maritimus* L.) – это однолетнее растение высотой от 5 до 80 см, относящееся к семейству гречишные (Polygonaceae Juss.). В настоящее время растение используется у народов Юго-Восточной Азии в качестве вяжущего, слабительного, ветрогонного средства и афродизиака [1–3], а также для лечения хронического уретрита и заболеваний кожи, ожогов [1, 3, 4]. Экспериментально установлено наличие у метанольного экстракта щавеля приморского антибактериальной, антирадикальной активности, вяжущих свойств [2], что гарантирует перспективность внедрения данного растения в медицинскую практику.

Однако химический состав щавеля приморского изучен фрагментарно. Известно, что растение содержит флавоноиды: румарин, гиперин, рутин; дубильные вещества; алкалоиды [2]; антрахиноны: хризофанол, эмодин, фиссион [3].

Таким образом, актуальным является установление химического состава щавеля приморского для обеспечения внедрения его в медицинскую практику.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить качественный состав надземной части щавеля приморского методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

INTRODUCTION

Rumex maritimus L. (common golden dock) is an annual plant with a height of 5 to 80 cm, belonging to the buckwheat family (Polygonaceae Juss.). Currently, the plant is used by the peoples of South-East Asia as an astringent, laxative, carminative and aphrodisiac [1–3], as well as for the treatment of chronic urethritis and skin diseases, burns [1, 3, 4]. It was experimentally established that the methanol extract of golden dock has antibacterial, antiradical activity, astringent properties [2], which guarantees the prospects for the introduction of the herb into medical practice.

However, the chemical composition of golden dock is studied fragmentarily. The plant is known to contain flavonoids: rumarin, hyperin, rutin; tannins; alkaloids [2]; anthraquinones: chrysophanol, emodin, fission [3].

Thus, it is urgent to establish the chemical composition of the plant to ensure its introduction into medical practice.

AIM OF THE RESEARCH

To determine the qualitative composition of the aerial part of *Rumex maritimus* L. by high-performance liquid chromatography (HPLC).

MATERIALS AND METHODS

To study the qualitative composition of *Rumex maritimus* L., we used the aboveground part of the

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения качественного состава щавеля приморского использовали надземную часть растения в стадии цветения и начала плодоношения, собранную на территории Омской области (Любинский р-н, берег р. Авлуха, август 2020 г.). Сушка сырья проводилась воздушно-теньевым способом.

Сырье измельчали до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 1 мм. Измельченное сырье помещали в круглодонную колбу объемом 4 л, прибавляли 95% этанол «до зеркала» и настаивали при комнатной температуре в течение 2 сут. Затем колбу помещали на водяную баню на 40 мин. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр, сырье заливали 95% этанолом «до зеркала» и повторно экстрагировали на кипящей водяной бане в течение 40 мин. Оба извлечения объединяли, отгоняли этанол на ротационном испарителе и последовательно обрабатывали хлороформом, этилацетатом и *n*-бутанолом.

В результате были получены хлороформная, этилацетатная и бутанольная фракции и остаток водного раствора этанольного извлечения, которые после удаления растворителей анализировали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с диодно-матричным детектором на приборе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) в изократическом режиме. Условия хроматографирования: аналитическая колонка PerfectSil Target ODS-3 HD (MZ-Analysentechnik GmbH, Германия), 4.6×200 мм, заполненная сорбентом с размером частиц 5 мкм; состав подвижной фазы: ацетонитрил – вода в соотношении 70:30, ацетонитрил – 5% уксусная кислота – вода в соотношении 70:20:10 (хлороформная фракция); ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80, ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 10:90 (этилацетатная фракция); ацетонитрил – вода в соотношении 10:90 (бутанольная фракция); ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 5:95 (водный остаток); детектирование при длине волны 254 нм; температура колонки – комнатная; скорость подвижной фазы – 0.5 мл/мин; объем вводимой пробы 20 мкл.

Идентификацию соединений проводили, используя стандартные образцы (Sigma Aldrich) и рабочие стандартные образцы, а также пользуясь литературными данными о спектральных характеристиках веществ ($\lambda_{\max} \pm 2$ нм).

Обработку результатов производили с использованием программного обеспечения LC Solutions.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фитохимический анализ надземной части щавеля приморского методом обращенно-фазовой ВЭЖХ показал наличие веществ классов

plant at the stage of flowering and the beginning of fruiting, collected in the Omsk region (Lyubinsky district, the bank of the Avlukha river, August 2020). The drying of raw materials was carried out using an air-shadow method.

The raw material was crushed into particles capable of passing through a sieve with holes of 1 mm in diameter. The crushed raw material was placed in a 4 l round-bottomed flask, 95% ethanol was added, until there formed a smooth surface, and infused at a room temperature for 2 days. The flask was then placed in a water bath for 40 min. The resulting extraction was filtered through a paper filter, the raw material poured with 95% ethanol and re-extracted in a boiling water bath for 40 min. Both extractions were combined, ethanol was distilled off on a rotary evaporator, and a sequential treatment with chloroform, ethyl acetate, and *n*-butanol was performed.

As a result, we obtained chloroform, ethyl acetate, and butanol fractions, and the residue of the aqueous solution of ethanol extraction, which, after removing the solvents, were analyzed by reversed-phase HPLC with a diode array detector on an LC-20 Prominence device (Shimadzu, Japan) in isocratic mode. Chromatographic conditions: PerfectSil Target ODS-3 HD analytical column (MZ-Analysentechnik GmbH, Germany), 4.6×200 mm, filled with a sorbent with a particle size of 5 μ m; the mobile phase containing: acetonitrile – water in 70:30 ratio, acetonitrile – 5% acetic acid – water in 70:20:10 ratio (chloroform fraction); acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio, acetonitrile – 5% acetic acid in 10:90 ratio (ethyl acetate fraction); acetonitrile – water in 10:90 ratio (butanol fraction); acetonitrile – 5% acetic acid in 5:95 ratio (aqueous residue); detection at a wavelength of 254 nm; room temperature of column; the speed of the mobile phase is 0.5 ml/min; the volume of the injected sample is 20 μ l.

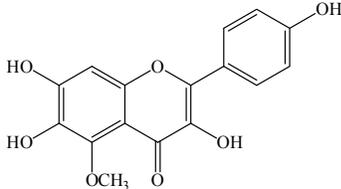
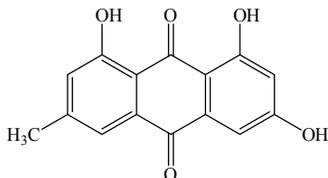
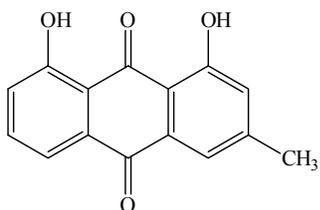
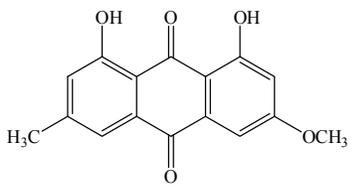
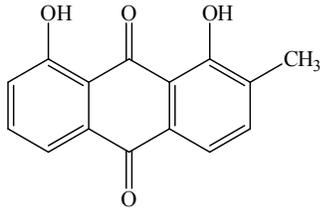
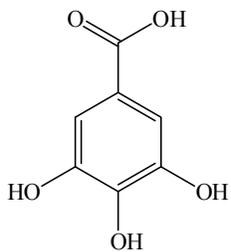
Compounds were identified using standard samples (Sigma Aldrich) and working standard samples, as well as using literature data on the spectral characteristics of substances ($\lambda_{\max} \pm 2$ nm).

The results were processed using the LC Solutions software.

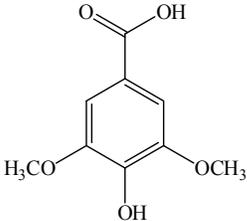
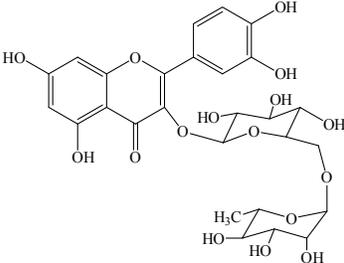
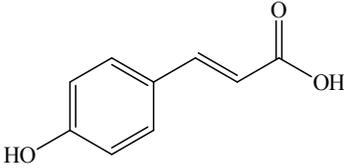
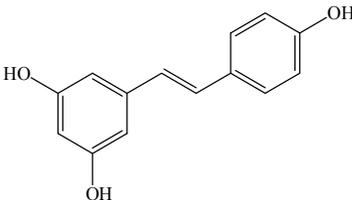
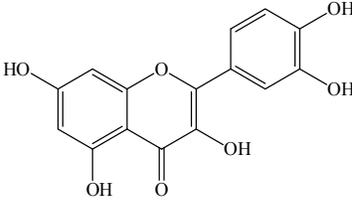
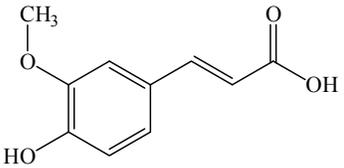
RESULTS AND DISCUSSION

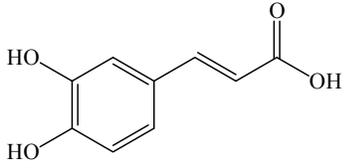
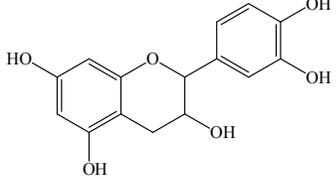
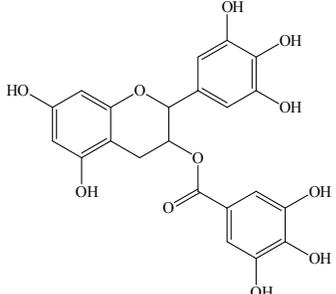
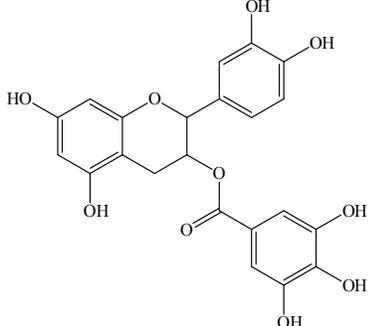
Phytochemical analysis of the aboveground part of golden dock by reversed-phase HPLC showed the presence of substances of the classes of anthraquinones, flavonoids, stilbenes, phenolic acids (Table 1).

Таблица 1. Идентифицированные соединения в надземной части щавеля приморского (*Rumex maritimus* L.)
Table 1. Identified compounds in the aboveground part of golden dock (*Rumex maritimus* L.)

№ п/п No.	Название и химическая формула Name and chemical formula	Состав подвижной фазы Mobile phase composition	Время удержи- вания, мин Retention time, min	Спектральные харак- теристики λ_{\max} , нм Spectral characteristics λ_{\max} , nm
<i>Хлороформная фракция / Chloroform fraction</i>				
1	Вогелетин / Vogeleitin 	Ацетонитрил – вода в соотношении 70:30 Acetonitrile – water in 70:30 ratio	6.26	277, 349
2	Эмодин / Emodin 	Ацетонитрил – вода в соотношении 70:30 Acetonitrile – water in 70:30 ratio	9.96	219, 252, 266, 287
3	Хризофанол / Chrysophanol 	Ацетонитрил – вода в соотношении 70:30 Acetonitrile – water in 70:30 ratio	21.22	221, 252, 277, 428
4	Фисцион / Fiscion 	Ацетонитрил – вода в соотношении 70:30 Acetonitrile – water in 70:30 ratio	27.33	222, 253, 266, 285, 435
5	Изохризофанол / Isochrysophanol 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота – вода в соотношении 70:20:10 Acetonitrile – 5% acetic acid – water in 70:20:10 ratio	11.51	268, 279, 317, 408
<i>Этилацетатная фракция / Ethyl acetate fraction</i>				
6	Галловая кислота / Gallic acid 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	5.84	240, 279

Продолжение табл. 1 / Continuation of Table 1

№ п/п No.	Название и химическая формула Name and chemical formula	Состав подвижной фазы Mobile phase composition	Время удерживания, мин Retention time, min	Спектральные характеристики λ_{\max} , нм Spectral characteristics λ_{\max} , nm
<i>Этилацетатная фракция / Ethyl acetate fraction</i>				
7	Сиреневая кислота Syringic acid 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	6.54	240, 278, 321
8	Рутин / Rutin 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	10.02	253, 353
9	<i>n</i> -кумаровая кислота <i>p</i> -Coumaric acid 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	11.85	238, 309
10	Ресвератрол / Resveratrol 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	27.94	239, 305, 318
11	Кверцетин / Quercetin 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 20:80 Acetonitrile – 5% acetic acid in 20:80 ratio	47.48	253, 369
12	Феруловая кислота / Ferulic acid 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 10:90 Acetonitrile – 5% acetic acid in 10:90 ratio	38.77	241, 323

№ п/п No.	Название и химическая формула Name and chemical formula	Состав подвижной фазы Mobile phase composition	Время удержи- вания, мин Retention time, min	Спектральные харак- теристики λ_{\max} , нм Spectral characteristics λ_{\max} , nm
<i>Бутанольная фракция / Butanol fraction</i>				
13	Кофейная кислота Caffeic acid 	Ацетонитрил – вода в соотношении 10:90 Acetonitrile – water in 10:90 ratio	32.15	219, 235, 328
14	Катехин / Catechin 	Ацетонитрил – вода в соотношении 10:90 Acetonitrile – water in 10:90 ratio	10.97	276
<i>Водный остаток / Aqueous residue</i>				
15	Эпигаллокатехин-3-галлат Epigallocatechin-3-gallate 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 5:95 Acetonitrile – 5% acetic acid in 5:95 ratio	5.51	274
16	Эпикатехин-3-галлат Epicatechin-3-gallate 	Ацетонитрил – 5% уксусная кислота в соотношении 5:95 Acetonitrile – 5% acetic acid in 5:95 ratio	19.96	270

антрахинонов, флавоноидов, стильбенов, фенолокислот (табл. 1).

Известно, что в корнях, стеблях, листьях щавеля приморского содержатся антраценпроизводные хризофанол, фисцион, эмодин [3]. Кроме этих соединений в хлороформной фракции с использованием литературных данных [5] идентифицирован изохризофанол.

It is known that the roots, stems, leaves of golden dock contain anthracene derivatives of chrysophanol, fission, emodin [3]. In addition to these compounds, isochrysophanol was identified in the chloroform fraction using the literature data [5].

According to the spectral characteristics presented in the literature [6], the flavonoid vogeleitin was also identified in the chloroform fraction.

По спектральным характеристикам, представленным в литературных источниках [6], в хлороформной фракции был также идентифицирован флавоноид вогелетин. Данное соединение и его гликозиды ранее были обнаружены в другом представителе семейства Polygonaceae – *Polygonum recumbens* Royle ex Bab. [7].

В этилацетатной фракции идентифицированы флавоноиды рутин и кверцетин, фенолоксиклоты – галловая, сиреневая, *n*-кумаровая, феруловая, производное транс-стильбена ресвератрол. Ресвератрол присутствует и у других представителей семейства Polygonaceae: в растениях родов *Polygonum* L. [8, 9], *Rheum* L. [10], *Rumex* L. [11, 12].

В бутанольной фракции идентифицированы кофейная кислота и флавоноид катехин, в водном остатке – флавоноиды эпигаллокатехин-3-галлат и эпикатехин-3-галлат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В надземной части щавеля приморского методом ВЭЖХ установлено наличие антрахинонов, флавоноидов, стильбенов, фенолоксиклот. Антрахиноны представлены четырьмя идентифицированными веществами – эмодином, хризофанолом, фисционом, изохризофанолом. Среди флавоноидов идентифицированы рутин, кверцетин, катехины (катехин, эпигаллокатехин-3-галлат, эпикатехин-3-галлат), вогелетин; из соединений класса стильбенов установлено наличие ресвератрола. Фенольные кислоты представлены галловой, сиреневой, *n*-кумаровой, феруловой и кофейной кислотами. Впервые обнаружены в надземной части щавеля приморского галловая, сиреневая, *n*-кумаровая, феруловая, кофейная кислоты, ресвератрол, катехин, эпигаллокатехин-3-галлат, эпикатехин-3-галлат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Uddin K., Rahman A.H.M.M., Islam A.K.M.R. Taxonomy and traditional medicine practices of Polygonaceae (smartweed) family at Rajshahi, Bangladesh // *Int. J. Adv. Res.* 2014;2:459–469.
2. Hossain M.S., Rashid A.H.M.A., Rahman M.M., Sadhu S.K. Antioxidant, antimicrobial and antidiarrhoeal activity of methanolic extract of *Rumex maritimus* L. (Polygonaceae) // *J. Appl. Pharm. Sci.* 2015;5(3):56–60. doi: 10.7324/JAPS.2015.510.S10.
3. Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The genus *Rumex*: review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology // *J. Ethnopharmacol.* 2015;175:198–228. doi: 10.1016/j.jep.2015.09.001.
4. Topno S.C., Sinha M.R. Study of medicinal plants used to heal skin diseases by tribes of west Singhbhum district of Jharkhand (India) // *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2018;7(1):371–376.

This compound and its glycosides were previously found in another member of the Polygonaceae family, *Polygonum recumbens* Royle ex Bab. [7].

In the ethyl acetate fraction, flavonoids rutin and quercetin, phenolic acids: gallic, syringic, *p*-coumaric, ferulic, and the trans-stilbene derivative resveratrol were identified. Resveratrol is also present in other representatives of the Polygonaceae family: in plants of the genera *Polygonum* L. [8, 9], *Rheum* L. [10], *Rumex* L. [11, 12].

Caffeic acid and flavonoid catechin were identified in the butanol fraction, and flavonoids epigallocatechin-3-gallate and epicatechin-3-gallate were identified in the aqueous residue.

CONCLUSION

The presence of anthraquinones, flavonoids, stilbenes, and phenolic acids was revealed by HPLC in the aerial part of golden dock. Anthraquinones are represented by four identified substances: emodin, chrysophanol, fission, isochrysophanol. Among the flavonoids, rutin, quercetin, catechins (catechin, epigallocatechin-3-gallate, epicatechin-3-gallate), vogeletin were identified; from compounds of the stilbene class, the presence of resveratrol was established. Phenolic acids are represented by gallic, syringic, *p*-coumaric, ferulic and caffeic acids. For the first time, gallic, syringic, *p*-coumaric, ferulic, caffeic acids, resveratrol, catechin, epigallocatechin-3-gallate, epicatechin-3-gallate were found in the aboveground part of golden dock.

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

REFERENCES

1. Uddin K., Rahman A.H.M.M., Islam A.K.M.R. Taxonomy and traditional medicine practices of Polygonaceae (smartweed) family at Rajshahi, Bangladesh. *Int. J. Adv. Res.* 2014;2:459–469.
2. Hossain M.S., Rashid A.H.M.A., Rahman M.M., Sadhu S.K. Antioxidant, antimicrobial and antidiarrhoeal activity of methanolic extract of *Rumex maritimus* L. (Polygonaceae). *J. Appl. Pharm. Sci.* 2015;5(3):56–60. doi: 10.7324/JAPS.2015.510.S10.
3. Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The genus *Rumex*: a review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 2015;175:198–228. doi: 10.1016/j.jep.2015.09.001.
4. Topno S.C., Sinha M.R. Study of medicinal plants used to heal skin diseases by tribes of West Singhbhum district of Jharkhand (India). *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2018;7(1):371–376.

5. Музычкина Р.А. Природные антрахиноны: биологические свойства и физико-химические характеристики. М.: ФАЗИС, 1998. 857 с.
6. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений: Распространение, физико-химические свойства, методы исследования. Алма-Ата: Наука, 1978. 220 с.
7. Sen N.K., Ghosh P.C., Kundu A.B., Chatterjee A. Vogelin, a new flavonoid glycoside from *Polygonum recumbens* (fam. Polygonaceae) // Chem. Ber. 1971;104(11):3425–3428. doi: 10.1002/cber.19711041108. (In German)
8. Wu Y., Wang X., Liu P., Niu Q., Wu Q. Quantitative determination of anthraquinones and resveratrol in *Polygonum Cillinerve* (Nakai) Ohwi by HPLC-PAD // J. AOAC Int. 2017;100(1):25–29. doi: 10.5740/jaoacint.16-0240.
9. Quoc L.P.T. Research on polyphenols extraction from *Polygonum multiflorum* Thunb. roots // Herba Pol. 2020;66(1):9–17. doi: 10.2478/hepo-2020-0002.
10. Rokaya M.B., Maršík P., Münzbergová Z. Active constituents in *Rheum acuminatum* and *Rheum australe* (Polygonaceae) roots: a variation between cultivated and naturally growing plants // Biochem. Syst. Ecol. 2012;41:83–90. doi: 10.1016/j.bse.2011.11.004.
11. Kerem Z., Regev-Shoshani G., Flaishman M.A., Sivan L. Resveratrol and two monomethylated stilbenes from Israeli *Rumex bucephalophorus* and their antioxidant potential // J. Nat. Prod. 2003;66(9):1270–1272. doi: 10.1021/np030087c.
12. Martínez J.L., Yumrutas O., Muñoz-Acevedo A., Jaimés L., Parlar A. Medicinal plants containing resveratrol. A mini review // Med. Plant Commun. 2020;3(3):53–59. doi: 10.37360/mpc.20.3.3.11.
5. Muzychkina R.A. (1998). *Natural anthraquinones: biological properties and physicochemical characteristics*. Moscow: FAZIS. 857 p. (In Russ.)
6. Klyshev L.K., Bandyukova V.A., Alyukina L.S. (1978). *Plant Flavonoids: Distribution, Physicochemical Properties, Research Methods*. Alma-Ata: Nauka. 220 p. (In Russ.)
7. Sen N.K., Ghosh P.C., Kundu A.B., Chatterjee A. Vogelin, a new flavonoid glycoside from *Polygonum recumbens* (fam. Polygonaceae). *Chem. Ber.* 1971;104(11):3425–3428. doi: 10.1002/cber.19711041108. (In German)
8. Wu Y., Wang X., Liu P., Niu Q., Wu Q. Quantitative determination of anthraquinones and resveratrol in *Polygonum Cillinerve* (Nakai) Ohwi by HPLC-PAD. *J. AOAC Int.* 2017;100(1):25–29. doi: 10.5740/jaoacint.16-0240.
9. Quoc L.P.T. Research on polyphenols extraction from *Polygonum multiflorum* Thunb. roots. *Herba Pol.* 2020;66(1):9–17. doi: 10.2478/hepo-2020-0002.
10. Rokaya M.B., Maršík P., Münzbergová Z. Active constituents in *Rheum acuminatum* and *Rheum australe* (Polygonaceae) roots: a variation between cultivated and naturally growing plants. *Biochem. Syst. Ecol.* 2012;41:83–90. doi: 10.1016/j.bse.2011.11.004.
11. Kerem Z., Regev-Shoshani G., Flaishman M.A., Sivan L. Resveratrol and two monomethylated stilbenes from Israeli *Rumex bucephalophorus* and their antioxidant potential. *J. Nat. Prod.* 2003;66(9):1270–1272. doi: 10.1021/np030087c.
12. Martínez J.L., Yumrutas O., Muñoz-Acevedo A., Jaimés L., Parlar A. Medicinal plants containing resveratrol. A mini review. *Med. Plant Commun.* 2020;3(3):53–59. doi: 10.37360/mpc.20.3.3.11.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Подгурская Вера Викторовна – ассистент кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-2101-0924.

Лукша Елена Александровна – канд. фармацевт. наук, доцент, декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0003-4591-2508.

Савченко Ирина Александровна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия.

Корнеева Ирина Николаевна – канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-9285-2950.

Иванова Евгения Викторовна – ассистент кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия.

Калиниченко Анастасия Михайловна – ординатор кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия.

ABOUT THE AUTHORS

Vera V. Podgurskaya – Assistant, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2101-0924.

Elena A. Luksha – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Faculty of Pharmacy, Dean, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Head, Omsk State Medical University, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4591-2508.

Irina A. Savchenko – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Irina N. Korneeva – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9285-2950.

Evgenia V. Ivanova – Assistant, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Anastasia M. Kalinichenko – Resident, Department of Pharmaceutical, Analytical and Toxicological Chemistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Синтез и определение активности нового производного гидроксипиримидина — потенциального объекта для изготовления противовоспалительного геля

Е.В. Куваева, Ю.М. Ладутько, Д.А. Колесник, П.О. Левшукова, Е.В. Федорова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»,
Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Соединения, имеющие в своем строении гидроксипиримидиновый фрагмент, обладают выраженной и разнообразной биологической активностью. Низкая растворимость многих производных гидроксипиримидина в воде является существенным недостатком с позиции создания новых лекарственных средств. Из 5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-она была получена его водорастворимая форма в виде натриевой соли. Данное вещество, как было выявлено в ходе компьютерного скрининга его возможной биологической активности *in silico*, потенциально может быть использовано в качестве фармацевтической субстанции для производства (изготовления) лекарственных препаратов (ЛП). Поскольку ассортимент гидроксипиримидиновых ЛП в виде наружных лекарственных форм крайне мал, а полученное соединение обладает гидрофильными свойствами, актуальным является заключение субстанции в лекарственную форму — гель.

Цель. Синтез водорастворимой формы нового производного гидроксипиримидина, определение ее острой токсичности и противовоспалительной активности, а также критических стадий разработки и дальнейшего изготовления наружной гидрофильной лекарственной формы на ее основе.

Материалы и методы. Целевое соединение получено в результате взаимодействия 5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-она и эквимолярного количества водного раствора гидроксида натрия. Острую токсичность определяли на белых мышах (5 групп по 10 животных, которым вводили раствор исследуемого соединения в дозировках 1100, 1200, 1300, 1400 и 1500 мг/кг соответственно), наблюдая за развитием основных симптомов и регистрируя время гибели животных в течение 72 ч с момента введения препарата. Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были использованы две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс» (для каждой модели — 3 группы животных по 10 особей в каждой: 1-я группа получала препарат сравнения диклофенак, 2-я — исследуемое соединение, 3-я (контроль) — раствор натрия хлорида).

Результаты. 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия синтезирован с выходом $85 \pm 1\%$. *In vivo* доказано, что исследуемое соединение относится к 5-му классу токсичности — «практически нетоксично» и обладает выраженной противовоспалительной активностью. Составлена диаграмма Исикавы для определения критических стадий разработки и изготовления мягкой лекарственной формы — геля с целевой субстанцией.

Заключение. Синтезировано новое соединение с противовоспалительным действием — 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия, которое обладает низкой токсичностью и выраженной противовоспалительной активностью. Критическими стадиями разработки и изготовления геля с синтезированным соединением являются: подготовка основы и лекарственного вещества, введение лекарственного вещества в основу, гомогенизация и фасовка.

Ключевые слова: водорастворимые гидроксипиримидины, острая токсичность, противовоспалительная активность, ИСН Q8 «Фармацевтическая разработка», диаграмма Исикавы.

Образец цитирования: Куваева Е.В., Ладутько Ю.М., Колесник Д.А., Левшукова П.О., Федорова Е.В. Синтез и определение активности нового производного гидроксипиримидина — потенциального объекта для изготовления противовоспалительного геля // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):46–55. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-46-55

Поступила в редакцию 18.08.2021
Прошла рецензирование 05.10.2021
Принята к публикации 25.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Колесник Денис Андреевич: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет». 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 14.
E-mail: denis.kolesnik@spcpcu.ru

Received 18.08.2021
Revised 05.10.2021
Accepted 25.10.2021

Corresponding author
Denis A. Kolesnik: Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14, Prof. Popov str., Saint Petersburg, 197376, Russia.
E-mail: denis.kolesnik@spcpcu.ru

Synthesis and determination of the activity of a new derivative of hydroxyoxypyrimidine, a potential object for the manufacture of anti-inflammatory gel

E.V. Kuvaeva, Yu.M. Ladutko, D.A. Kolesnik, P.O. Levshukova, E.V. Fedorova

Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petesburg, Russia

ABSTRACT

Introduction. Compounds with a hydroxypyrimidine fragment in their structure exhibit pronounced and diverse biological activity. The low solubility of many hydroxypyrimidine derivatives in water is a significant drawback in the development of new medicines. From 5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidin-4(3H)-one, its water-soluble form being a sodium salt was obtained. This compound, as it was revealed during the computer screening of its possible biological activity *in silico*, can potentially be used as a pharmaceutical substance for the production (manufacture) of drugs. Since the line of hydroxypyrimidine drugs in the topical dosage forms is extremely limited, and the resulting compound has hydrophilic properties, it is important to enclose the substance in a gel dosage form.

Aim. Synthesis of a water-soluble form of new hydroxypyrimidine derivative, determination of its acute toxicity and anti-inflammatory activity, as well as critical stages of development and further production of a topical hydrophilic dosage form based on the obtained compound.

Materials and Methods. The target compound was obtained from the interaction of 5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidin-4(3H)-one and an equimolar amount of an aqueous solution of sodium hydroxide. Acute toxicity was determined on white mice (5 groups of 10 animals, which were injected with a solution of the study compound at a dose of 1100, 1200, 1300, 1400, and 1500 mg/kg respectively), observing the development of the main symptoms and recording the time of death of the animals within 72 h from the moment of the drug administration. For the experimental assessment of anti-inflammatory activity, two models were used: formalin-induced mice paw edema and cotton pellet implantation-induced granuloma in rats (for each model there were 3 groups with 10 animals per group: the 1st group received the reference drug diclofenac, the 2nd – the compound under study, the 3rd (control) – sodium chloride solution).

Results. The yield of the obtained sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate was $85 \pm 1\%$. It has been proven *in vivo* that the test compound belongs to the 5th class of toxicity (practically non-toxic) and has a pronounced anti-inflammatory activity. An Ishikawa diagram was drawn up to determine the critical stages of the development and manufacture of a semisolid dosage form, a gel with a target substance.

Conclusion. A new compound with anti-inflammatory action has been synthesized, sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-4-olate, which has low toxicity and pronounced anti-inflammatory activity. The critical stages in the development and manufacture of a gel with synthesized compound are: preparation of the base and drug substance, introduction of the drug substance into the base, homogenization and packaging.

Keywords: water-soluble hydroxypyrimidines, acute toxicity, anti-inflammatory activity, ICH Q8 Pharmaceutical Development, Ishikawa diagram.

Citation example: Kuvaeva E.V., Ladutko Yu.M., Kolesnik D.A., Levshukova P.O., Fedorova E.V. Synthesis and determination of the activity of a new derivative of hydroxyoxypyrimidine, a potential object for the manufacture of anti-inflammatory gel. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):46–55. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-46-55

ВВЕДЕНИЕ

Соединения, имеющие в своем строении пиримидин-4,6-диольный фрагмент, обладают выраженной и разнообразной биологической активностью, однако ассортимент лекарственных препаратов на их основе на фармацевтическом рынке невелик [1]. По данным Государственного реестра лекарственных средств [2], ассортимент гидроксипиримидиновых лекарственных препаратов включает 104 торговых наименования с учетом лекарственной формы и производителя. Всего на территории Российской Федерации зарегистрировано 8 международных непатентованных наименований (МНН) лекар-

INTRODUCTION

Compounds with a pyrimidine-4,6-diol fragment in their structure have pronounced and diverse biological activity, but the assortment of drugs based on them on the pharmaceutical market is small [1]. According to the State Register of Medicines [2], the line of hydroxypyrimidine medicines includes 104 trade names, taking into account the dosage form and manufacturer. In total, 8 international non-proprietary names (INN) of medicinal products containing hydroxypyrimidine are registered in the Russian Federation.

The low water solubility of many hydroxypyrimidine derivatives is a significant drawback in the development of new medicines. The pharmaceutical

ственных препаратов с содержанием гидроксипиримидина.

Низкая растворимость многих производных гидроксипиримидина в воде является существенным недостатком с позиции создания новых лекарственных средств. В ходе анализа фармацевтического рынка было выявлено присутствие высокой доли (79 %) липофильных лекарственных препаратов.

Из 5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-она [3] была получена его водорастворимая форма в виде натриевой соли — 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия [4]. Перед тем как приступить к экспериментальному исследованию биологической активности данного вещества *in vivo*, был проведен компьютерный скрининг его возможной биологической активности *in silico* с помощью программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), расположенной на веб-сервисе со свободным доступом через Интернет. В процессе скрининга были получены данные о предположительной противовоспалительной и анальгетической активности данного вещества с вероятностью $p_a \approx 0.5$.

Противовоспалительная фармакотерапия является симптоматической, препараты первой линии — это нестероидные противовоспалительные средства. Риск развития серьезных побочных эффектов (нарушение агрегации тромбоцитов, осложнения со стороны ЖКТ, нарушение функции почек, печени и др.) при системном применении таких препаратов крайне высок и определяет актуальность поиска других подходов к терапии. Одним из них является использование противовоспалительных и анальгезирующих средств в виде наружных лекарственных форм, что сопровождается снижением риска развития побочных эффектов по сравнению с препаратами системного действия из-за значительного уменьшения концентрации действующих веществ в крови.

Обзор фармацевтического рынка [2] показал, что ассортимент лекарственных средств, имеющих в своем строении гидроксипиримидиновый фрагмент, в виде наружных лекарственных форм крайне мал. И поскольку исследуемое соединение обладает гидрофильными свойствами, то актуальным является заключение субстанции в лекарственную форму — гель.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Получить водорастворимую форму нового производного гидроксипиримидина, определить острую токсичность и противовоспалительную

market analysis revealed the presence of a high proportion (79%) of lipophilic drugs.

From 5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidin-4(3H)-one [3], we have obtained its water-soluble sodium salt, sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate [4]. Before the experimental study of the biological activity of this substance *in vivo*, a computer screening of its possible biological activity *in silico* was carried out using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) software product located on a web service with free access via the Internet. During the screening, data were obtained on the presumptive anti-inflammatory and analgesic activity of this substance with a probability of $p_a \approx 0.5$.

Anti-inflammatory pharmacotherapy is aimed at treating symptoms, and first-line drugs are non-steroidal anti-inflammatory medicines. The risk of developing serious side effects (impaired platelet aggregation, gastrointestinal complications, impaired renal and liver function, etc.) with the systemic use of such drugs is extremely high and determines the relevance of the search for other treatment approaches. One of them is the use of anti-inflammatory and analgesic agents in topical dosage forms, which is accompanied by a decrease in the risk of side effects in comparison with drugs of systemic action due to a significant decrease in the concentration of active substances in the blood.

A review of the pharmaceutical market [2] showed that the range of drugs with a hydroxypyrimidine fragment in their structure in the form of topical dosage forms is extremely limited. Since the investigated compound has hydrophilic properties, it may be relevant to enclose the substance in a gel dosage form.

AIM OF THE RESEARCH

To obtain a water-soluble form of new hydroxypyrimidine derivative, to determine the acute toxicity and anti-inflammatory activity of the synthesized substance *in vivo*, as well as the critical stages of further manufacture of the topical hydrophilic dosage form.

MATERIALS AND METHODS

5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidin-4(3H)-one was obtained as a result of the reaction of N'-phenylbenzene carboximidamide with diethylbutylpropanedioate in dimethylformamide during catalysis by potassium hydrogen carbonate. The synthesis scheme is shown in Fig. 1.

The target water-soluble compound was obtained by treating 5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimi-

активность синтезированного вещества *in vivo*, а также критические стадии дальнейшего изготовления наружной гидрофильной лекарственной формы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-он был получен в результате взаимодействия N'-фенилбензолкарбоксимидамида с диэтилбутилпропандиоатом в среде диметилформамида при катализе гидрокарбонатом калия. Схема синтеза представлена на рис. 1.

Целевое водорастворимое соединение получали путем обработки 5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-она эквимольным количеством водного раствора гидроксида натрия при перемешивании в течение 30 мин (рис. 2). Твердый целевой продукт получали упариванием реакционной массы при 40–45 °С и давлении 80–96 мбар.

Острую токсичность и биологическую активность определяли *in vivo*. Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» и Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Острую токсичность *in vivo* определяли на белых мышках-самцах массой 20 ± 2 г, из которых были сформированы 5 групп по 10 животных. Раствор 5-бутил-6-оксо-1,2-дифенил-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия в воде для инъекций (0.5 мл) вводили однократно внутривенно в дозировках 1100 мг/кг (1-я группа), 1200 (2-я группа), 1300 (3-я группа), 1400 (4-я группа) и 1500 мг/кг (5-я группа). Выживаемость животных определяли, наблюдая за ними в течение 72 ч (через 24 и 48 ч) от момента введения

din-4(3H)-one with an equimolar amount of an aqueous solution of sodium hydroxide with stirring for 30 min (Fig. 2). The solid target product was obtained by evaporation of the reaction mixture at 40–45°C and a pressure of 80–96 mbar.

Acute toxicity and biological activity were determined *in vivo*. All experiments on animals were carried out per the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016 No. 81 About approval of the Rules of proper laboratory practice of the Eurasian Economic Union in the field of drug circulation, and the National Standard of the Russian Federation GOST R 53434-2009 Principles of Proper Laboratory Practice.

Acute toxicity *in vivo* was determined on white male mice weighing 20 ± 2 g, from which 5 groups of 10 animals each were formed. A solution of sodium 5-butyl-6-oxo-1,2-diphenyl-1,6-dihydropyrimidine-4-olate in water for injection (0.5 ml) was injected once intraperitoneally at doses of 1100 mg/kg (1st group), 1200 (2nd group), 1300 (3rd group), 1400 (4th group), and 1500 mg/kg (5th group). The survival rate of the animals was determined by observing them for 72 h (after 24 and 48 h) from the moment of administration of the test compound. The development of the main symptoms and the time of death of animals were recorded [5].

For experimental evaluation of anti-inflammatory activity, two models were chosen: formalin-induced mice paw edema and cotton pellet-induced granuloma in rats.

The dose of the reference drug was calculated taking into account the conversion factor

$$\text{Dose (mg/kg)} = \text{SD/M} \cdot k,$$

where SD – a single dose of the drug, dose (mg/ml) in one ampoule;

M – the average weight of a person (70 kg);

k – conversion factor for a rat (11.8) and a mouse (5.9).

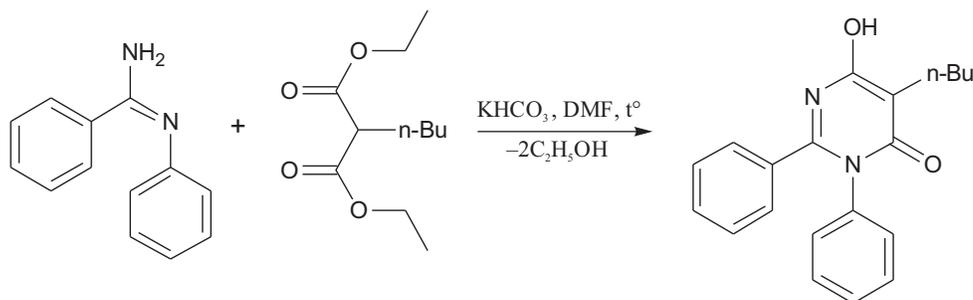


Рис. 1. Синтез 5-бутил-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4(3H)-она
Fig. 1. Synthesis of 5-butyl-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidin-4(3H)-one

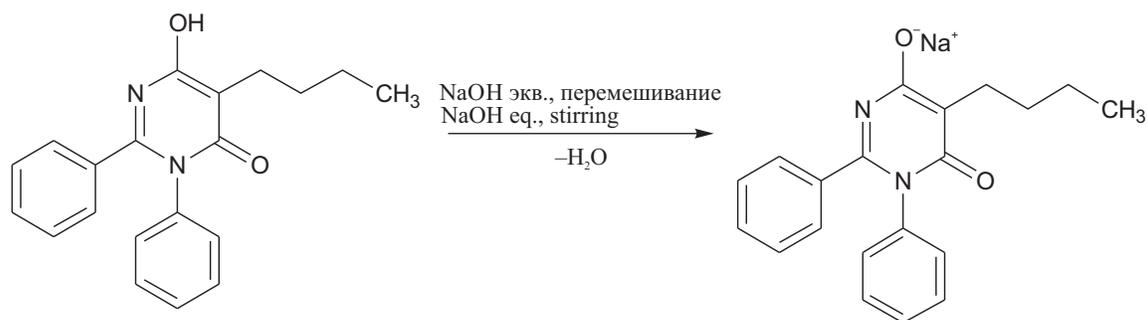


Рис. 2. Синтез 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропириимидин-4-олята натрия (экв. — эквимольный)
Fig. 2. Synthesis of sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate (eq. — equimolar)

исследуемого соединения. Регистрировали развитие основных симптомов и время гибели животных [5].

Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были выбраны две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс».

Дозу препарата сравнения рассчитывали с учетом коэффициента пересчета

$$\text{Доза (мг/кг)} = \text{РД/М} \cdot k,$$

где РД — разовая доза препарата — доза (мг/мл) в одной ампуле;

М — средняя масса человека — 70 кг;

k — коэффициент пересчета на крысу (11.8) и мышь (5.9).

Дозировка исследуемого вещества рассчитывалась эквимольно терапевтической дозе референтного препарата.

Для моделирования «формалинового отека» [5] использовали белых мышей-самцов массой 20 ± 2 г, из которых были сформированы 3 группы по 10 особей в каждой (табл. 1).

Животные опытных групп получали исследуемое соединение и препарат сравнения, которые вводили внутрибрюшинно за 1 ч до начала эксперимента. Животные контрольной группы получали внутрибрюшинно 0.9% раствор натрия хло-

The dose of the test substance was calculated as equimolar for therapeutic dose of the reference drug.

For formalin-induced edema modeling [5], white male mice weighing 20 ± 2 g were used, of which 3 groups of 10 animals each were formed (Table 1).

The animals of the experimental groups received the test compound and the reference drug, which were injected intraperitoneally 1 h before the start of the experiment. Animals of the control group received 0.9% sodium chloride solution intraperitoneally. Acute edema was induced by subplantar injection (under the plantar aponeurosis) of 2% formalin solution in a volume of 0.5 ml to each animal. The edema intensity was assessed by the change in the thickness of the paw (mm) using an electronic micrometer before and 1, 2, 24, and 48 h after the injection of the formalin solution. The anti-inflammatory activity of the test compounds was determined by the formula

$$\text{Suppression of inflammation (\%)} = \left(1 - \frac{S_1 - S_2}{S_3 - S_4}\right) \cdot 100,$$

where S_1 — the thickness of the paw (mm), measured after a certain period after the formalin injection in the animal that received the test drug;

Таблица 1. Описание групп животных модели «формалиновый отек»

Table 1. Description of groups of animals of the formalin edema model

Группа / Group	Вещество / Substance	Доза, объем / Dose, volume
1-я / 1st	Диклофенак (раствор для инъекций, Немофарм, 25 мг/мл) Diclofenac (solution for injection, Hemofarm, 25 mg/ml)	12.6 мг/кг (mg/kg)
2-я / 2nd	Исследуемое соединение (раствор в воде для инъекций (Renewal)) Test compound (aqueous solution for injection (Renewal))	20 мг/кг (mg/kg)
3-я (контроль) / 3rd (control)	Раствор натрия хлорида 0.9% (Solopharm) Sodium chloride solution 0.9% (Solopharm)	0.5 мл (ml)

рида. Острый отек вызывали субплантарным введением (под подошвенный апоневроз) 2% раствора формалина в объеме 0.5 мл каждому животному. Выраженность отека оценивали по изменению толщины лапки (мм) с помощью электронного микрометра до и через 1, 2, 24 и 48 ч после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность исследуемых соединений определяли по формуле

$$\text{Угнетение воспаления (\%)} = \left(1 - \frac{S_1 - S_2}{S_3 - S_4} \right) \cdot 100,$$

где S_1 — толщина лапки (мм), измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат;

S_2 — толщина лапки (мм), измеренной до введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат;

S_3 — толщина лапки (мм), измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у контрольного животного;

S_4 — толщина лапки (мм) до введения формалина у контрольного животного.

Для моделирования «ватной гранулемы» [5] использовали белых крыс-самок массой 300 ± 20 г, из которых были сформированы 3 группы по 10 особей в каждой (табл. 2).

Крысам, находящимся под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг), в области спины выбривали шерсть и делали продольный надрез кожи и подкожной клетчатки. Затем пинцетом в подкожной клетчатке формировали полость, в которую помещали стерильный ватный шарик (15 мг) и накладывали 1 шов. Исследуемый препарат и препарат сравнения вводили внутривентриально 1 раз в сутки в течение 7 дней. Контрольной группе в течение 7 дней внутривентриально вводили 0.9% раствор натрия хлорида. На 8-й день имплантированный шарик с образовавшейся фиброзно-грануляционной тканью извлекали,

S_2 — the paw thickness (mm), measured before formalin injection in the animal that received the test drug;

S_3 — the thickness of the paw (mm), measured after a certain period after the formalin injection in the control animal;

S_4 — the paw thickness (mm) before formalin injection in the control animal.

For the cotton pellet-induced granuloma modeling [5], white female rats weighing 300 ± 20 g were used, of which 3 groups of 10 animals each were formed (Table 2).

In rats under chloral hydrate anaesthesia (300 mg/kg), hair was shaved in the back area, and a longitudinal incision was made in the skin and subcutaneous tissue. Then, in the subcutaneous tissue a cavity was formed with tweezers, into which a sterile cotton pellet (15 mg) was placed, and 1 stitch put. The test drug and the reference drug were administered intraperitoneally once a day for 7 days. The control group was injected intraperitoneally with 0.9% sodium chloride solution for 7 days. On the 8th day, the implanted pellet with the formed fibro-granulomatous tissue was removed, weighed and dried to constant weight at 60°C . Anti-inflammatory activity was assessed by the calculated values of the mass of the granuloma, which characterizes inflammation.

RESULTS AND DISCUSSION

Sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate (Fig. 3) was obtained by the reaction of 5-butyl-6-hydroxy-1,2-diphenyl-1,6-dihydropyrimidine-4(3H)-one with an equimolar amount of an aqueous solution of sodium hydroxide. The yield was $85 \pm 1\%$.

The experimental median lethal dose was 1350 ± 11.21 mg/kg. Thus, the test compound belongs to the 5th class of toxicity, practically non-toxic (according to K.K. Sidorov's Classification).

Таблица 2. Описание групп животных модели «ватная гранулема»
Table 2. Description of groups of animals of the cotton pellet granuloma model

Группа / Group	Вещество / Substance	Доза, объем / Dose, volume
1-я / 1st	Диклофенак (раствор для инъекций, Немофарм, 25 мг/мл) Diclofenac (solution for injection, Hemofarm, 25 mg/ml)	6.32 мг/кг (mg/kg)
2-я / 2nd	Исследуемое соединение (раствор в воде для инъекций (Renewal)) Test compound (aqueous solution for injection (Renewal))	33.3 мг/кг (mg/kg)
3-я (контроль) / 3rd (control)	Раствор натрия хлорида 0.9% (Solopharm) Sodium chloride solution 0.9% (Solopharm)	0.5 мл (ml)

взвешивали и высушивали до постоянной массы при 60 °С. Противовоспалительную активность оценивали по расчетным величинам массы гранулемы, характеризующим воспаление.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия (рис. 3) был получен взаимодействием 5-бутил-6-гидрокси-1,2-дифенил-1,6-дигидропиримидин-4(3H)-она с эквимольным количеством водного раствора гидроксида натрия. Выход составил $85 \pm 1 \%$.

Экспериментальная среднелетальная доза составила 1350 ± 11.21 мг/кг. Таким образом, исследуемое соединение относится к 5-му классу токсичности — «практически нетоксично» (согласно классификации по К.К. Сидорову).

Исследования противовоспалительной активности *in vivo* показали, что 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия обладает выраженной противовоспалительной активностью, действуя как на этапе острого экссудативного воспаления (модель «формалиновый отек»), так и на стадии хронического пролиферативного и иммунного воспаления (модель «ватная гранулема»), а также находится на одном уровне с препаратом сравнения (табл. 3, 4) [6].

Таким образом, учитывая выраженную противовоспалительную активность и низкую токсичность синтезированного водорастворимого лекарственного вещества, целесообразно разработать наружную лекарственную форму с ним.

Согласно требованиям регуляторной практики, для улучшения качества готового продукта и процесса его производства необходимо принимать во внимание рекомендации ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» (ICH Q8 Pharmaceutical Development), разработанные в рамках Международной конференции по гармонизации требований к регистрации лекарственных средств для человека. Наиболее распространенным инструментом анализа оценки критических точек может служить диаграмма Исикавы («Рыбий скелет»), которая за счет своей незамкнутости позволяет определить возможные риски: исходное сырье, технологические факторы и др. На основании комплексного анализа разработанной диаграммы (рис. 4) определены критические стадии разработки и изготовления мягкой лекарственной формы — геля с 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олятом натрия: подготовка основы и лекарственного вещества, введение лекарственного вещества в основу, гомогенизация и фасовка.

In vivo anti-inflammatory activity studies have shown that sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate has a pronounced anti-inflammatory activity, acting both at the stage of acute exudative inflammation (formalin edema model), and at the stage of chronic proliferative and immune inflammation (cotton pellet granuloma model), and is also at the same level as the reference drug (Tables 3, 4) [6].

Thus, given the pronounced anti-inflammatory activity and low toxicity of the synthesized water-soluble medicinal substance, it is advisable to develop its topical dosage form.

According to the requirements of regulatory practice, in order to improve the quality of the finished product and its manufacturing process, it is necessary to take into account the recommendations of ICH Q8 Pharmaceutical Development, developed within the framework of the International Council on Harmonization for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. The most common tool for analyzing the assessment of critical points can be the Ishikawa diagram (fishbone diagram), which, due to its openness, allows to determine possible risks inherent in the starting materials, technological factors, etc. Based on a comprehensive analysis of the developed diagram (Fig. 4), critical stages of the development and manufacturing of a semisolid dosage form, gel with sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate were defined: preparation of the base and drug substance, introduction of the drug substance into the base, homogenization and packaging.

CONCLUSION

A new compound has been synthesized, sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate. Experimental pharmacological studies have shown that the compound under study has low toxicity and exhibits pronounced anti-inflammatory activity. Based on a comprehensive analysis of the Ishikawa diagram, the critical stages of the development and manufacture of a topical dosage form, a gel with synthesized hydroxypyrimidine, were identified: preparation of the base and drug substance, the introduction of the drug substance into the base, homogenization and packaging.

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

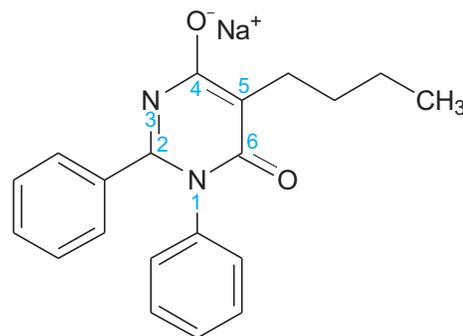


Рис. 3. Формула 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия с нумерацией главного цикла

Fig. 3. The formula of sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate with the numbering of the main cycle

Таблица 3. Результаты оценки противовоспалительной активности в модели «формалиновый отек» у мышей (n = 10)
Table 3. The results of evaluation of anti-inflammatory activity in the formalin edema model in mice (n = 10)

Группа / Group	Угнетение воспаления, % / Inhibition of inflammation, %			
	через 1 ч / after 1 h	через 2 ч / after 2 h	через 24 ч / after 24 h	через 48 ч / after 48 h
Диклофенак Diclofenac	-7.69 ± 2.39*	12.20 ± 3.07	14.82 ± 3.00	15.70 ± 3.79
Исследуемое соединение Test compound	12.60 ± 8.19**	25.65 ± 5.68	26.81 ± 6.77	30.85 ± 8.18

* На фоне применения референсного препарата наблюдалось отсутствие угнетения воспаления с некоторой его провокацией.
 The use of the reference drug was characterized by the absence of inhibition of inflammation, and to some extent by its provocation.

** Различия статистически значимы (p ≤ 0.05) по сравнению с группой «Диклофенак».
 Differences are statistically significant (p ≤ 0.05) compared with the diclofenac group.

Таблица 4. Результаты оценки противовоспалительной активности в модели «ватная гранулема» у крыс (n = 10)
Table 4. The results of evaluation of anti-inflammatory activity in the cotton pellet granuloma model in rats (n = 10)

Группа животных Group of animals	Масса гранулемы, г Granuloma mass, g		Расчетная величина массы гранулемы, характеризующая воспаление, г Estimated value of granuloma mass characterizing inflammation, g	
	сырая (M ₁) raw (M ₁)	высушенная (M ₂) dried (M ₂)	экссудативная фаза (M ₁ - M ₂) exudative phase (M ₁ - M ₂)	пролиферативная фаза (M ₁ - M _p) proliferative phase (M ₁ - M _p)
Имплантация ватного шарика (контроль) Cotton pellet implantation (control)	0.253 ± 0.018	0.088 ± 0.006	0.164 ± 0.012	0.074 ± 0.006
Имплантация ватного шарика + диклофенак Cotton pellet implantation + diclofenac	0.199 ± 0.011*	0.069 ± 0.005*	0.129 ± 0.01*	0.054 ± 0.005*
Имплантация ватного шарика + исследуемое соединение Cotton pellet implantation + test compound	0.186 ± 0.009*#	0.060 ± 0.004*#	0.126 ± 0.006*#	0.045 ± 0.004*#

Примечания: M_ш — масса шарика (0.015 г).

* Различия статистически значимы при p ≤ 0.05 по сравнению с группой контроля.

Статистически значимых различий с группой сравнения (диклофенак) нет.

Notes: M_p — the mass of the pellet (0.015 g).

* Differences are statistically significant at p ≤ 0.05 compared to the control group.

There are no statistically significant differences with the diclofenac group.

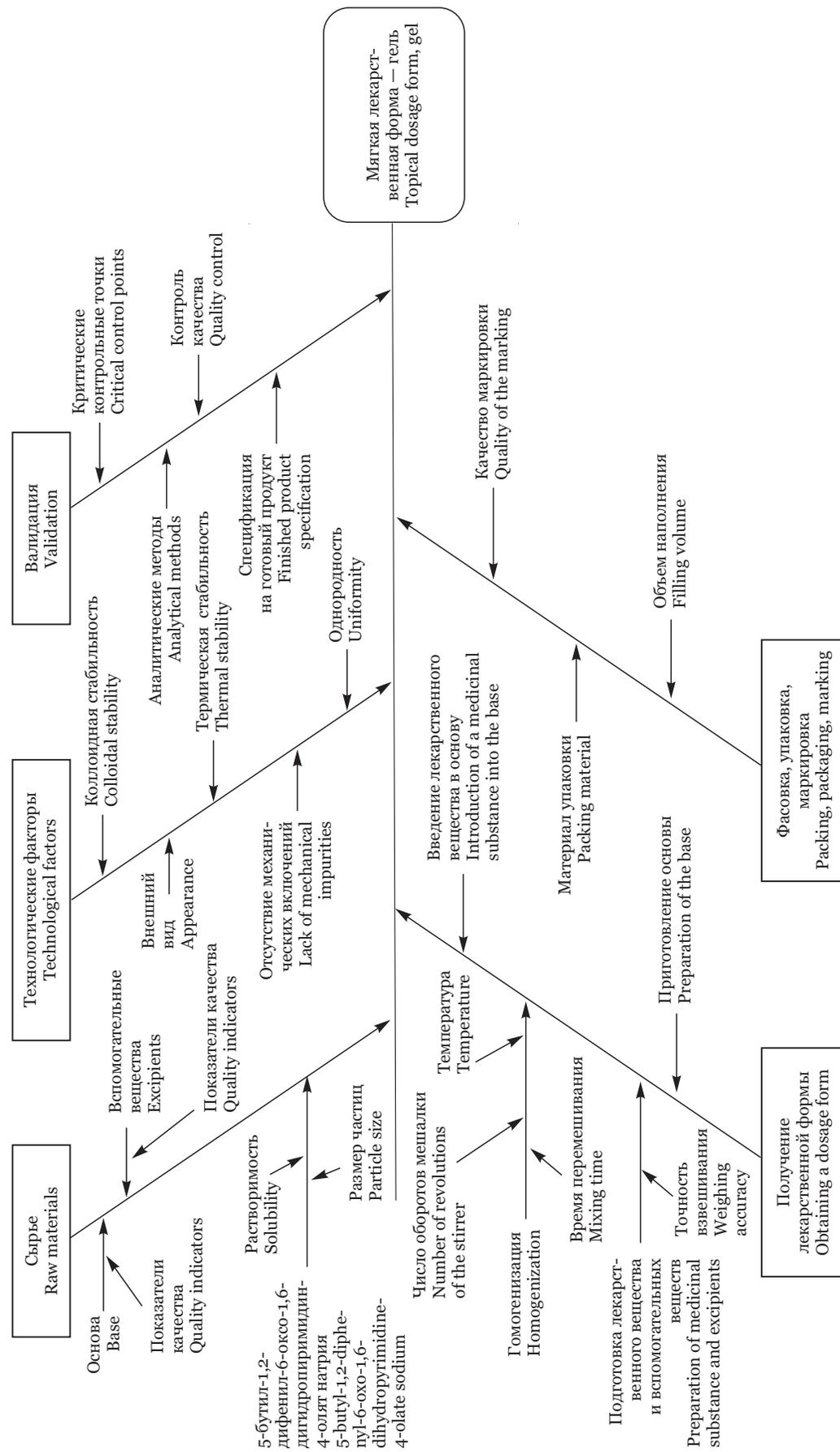


Рис. 4. Диаграмма Исикавы технологии лекарственной формы с 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропириимидин-4-олятом натрия
Fig. 4. Ishikawa fishbone diagram of the technology of the dosage form with sodium 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезировано новое соединение — 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия. С помощью экспериментальных фармакологических исследований доказано, что исследуемое соединение обладает низкой токсичностью и проявляет выраженную противовоспалительную активность. На основании комплексного анализа диаграммы Исикавы определены критические стадии разработки и изготовления мягкой лекарственной формы — геля с синтезированным гидроксипиримидином: подготовка основы и лекарственного вещества, введение лекарственного вещества в основу, гомогенизация и фасовка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jansa P., Holý A., Dračinský M. et al. 5-Substituted 2-amino-4,6-dihydropyrimidines and 2-amino-4,6-dichloropyrimidines: synthesis and inhibitory effects on immune-activated nitric oxide production // *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(10):4482–4490. doi: 10.1007/s00044-014-1018-9.
2. Государственный реестр лекарственных средств. URL: grls.rosminzdrav.ru (дата обращения: 21.10.2021).
3. 5-Замещенные-6-гидрокси-2,3-дифенилпиримидин-4-(3H)-оны и способ их получения: Патент 2738605 С1, Российская Федерация, МПК С07D 239/54 (2006.01). Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Т.Л. Семакова, О.Ю. Стрелова, И.П. Яковлев; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. Оpubл. 14.12.2020.
4. Колесник Д.А., Куваева Е.В., Яковлев И.П., Кириллова Е.Н., Семакова Т.Л. Синтез гидрофильных форм 6-гидроксипиримидин-4(3H)-онов и оценка их острой токсичности *in silico* и *in vivo* // Бутлеровские сообщения. 2021;66(4):41–45. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/21-66-4-41.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / отв. ред. А.Н. Миронов. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
6. Куваева Е.В., Колесник Д.А., Левшукова П.О., Кириллова Е.Н., Ивкин Д.Ю. Оценка противовоспалительной активности нового производного 1,6-дигидропиримидина // *Фармация*. 2021;70(4):44–47. doi: 10/29296/25419218-2021-04-07.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Куваева Елена Владимировна — канд. фармацевт. наук, доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия.

Ладутько Юлия Михайловна — канд. фармацевт. наук, декан фармацевтического факультета, доцент кафедры технологии лекарственных форм ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия.

Колесник Денис Андреевич — ассистент кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия.

Левшукова Полина Олеговна — аспирант кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия.

Федорова Елена Владимировна — канд. фармацевт. наук, доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия.

лены критические стадии разработки и изготовления мягкой лекарственной формы — геля с синтезированным гидроксипиримидином: подготовка основы и лекарственного вещества, введение лекарственного вещества в основу, гомогенизация и фасовка.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Jansa P., Holý A., Dračinský M. et al. 5-Substituted 2-amino-4,6-dihydropyrimidines and 2-amino-4,6-dichloropyrimidines: synthesis and inhibitory effects on immune-activated nitric oxide production. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(10):4482–4490. doi: 10.1007/s00044-014-1018-9.
2. State Register of Medicines. URL: grls.rosminzdrav.ru (accessed 21.10.2021).
3. 5-Substituted-6-hydroxy-2,3-diphenylpyrimidine-4-(3H)-ones and a method for their preparation: Patent 2738605 С1, Russian Federation, IPC С07D 239/54 (2006.01). D.A. Kolesnik, E.V. Kuvaeva, T.L. Semakova, O.Yu. Strelowa, I.P. Yakovlev; applicant and patentee of Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University. Publ. 14.12.2020.
4. Kolesnik D.A., Kuvaeva E.V., Yakovlev I.P., Kirillova E.N., Semakova T.L. 6-hydropyrimidin-4(3H)-ones hydrophilic forms synthesis and of their acute toxicity *in silico* and *in vivo* assessment. *Journal Butlerov Communications*. 2021;66(4):41–45. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/21-66-4-41. (In Russ.)
5. Mironov A.N. (ed.) (2012). *Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Drugs. Part 1*. Moscow: Grif i K. 944 p. (In Russ.)
6. Kuvaeva E.V., Kolesnik D.A., Levshukova P.O., Kirillova E.N., Ivkin D.Yu. Evaluation of anti-inflammatory activity of a new 1,6-dihydropyrimidine derivative. *Pharmacy*. 2021;70(4):44–47. doi: 10/29296 / 25419218-2021-04-07. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Elena V. Kuvaeva – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia.

Yulia M. Ladutko – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Dean, Faculty of Pharmacy, Associate Professor, Department of Technology of Dosage Forms, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia.

Denis A. Kolesnik – Assistant, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia.

Polina O. Levshukova – Post-graduate Student, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia.

Elena V. Fedorova – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia.

Технология прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода

В.А. Мудров¹, А.В. Якимова²

¹ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Чита, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Роды в заднем виде затылочного предлежания плода являются предметом пристального внимания врачей акушеров-гинекологов. Несмотря на отнесение данной категории родов к физиологическим, исход напрямую зависит от перехода заднего вида затылочного предлежания в передний в процессе родов. Сохранение заднего вида является фактором риска оперативного родоразрешения.

Цель. Разработка технологии прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода.
Материалы и методы. На базе перинатального центра ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Чита проведен проспективный анализ 118 случаев родов в период 2018–2021 гг. Общая выборка была разделена на 3 группы: 1-я — 80 рожениц с передним видом затылочного предлежания плода; 2-я — 18 пациенток с задним видом затылочного предлежания плода, в процессе родоразрешения которых произошел поворот в передний вид; 3-я — 20 рожениц с задним видом затылочного предлежания плода, в процессе родоразрешения которых поворот в передний вид не произошел. Группы были сопоставимы по возрасту и экстрагенитальной патологии. Всем женщинам накануне родов (1–2 дня) проводили осмотр и ультразвуковое исследование.

Результаты. Технология прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода реализована на базе многослойного перцептрона, процент неверных предсказаний в процессе обучения которого составил 11.1. Структура обучаемой нейронной сети включала 8 входных нейронов: паритет родов, рост, масса тела и межкостный размер большого таза (*distantia spinarum*) женщины, бипариетальный размер головки и длина бедра плода, наличие или отсутствие преиндукции родов.

Заключение. Комплексный подход, основанный на нейросетевом анализе анамнеза, а также данных объективного и ультразвукового исследования, позволяет с точностью до 90.0 % прогнозировать исход родов при заднем виде затылочного предлежания плода. Применение данной технологии в клинической практике позволит снизить частоту неблагоприятных акушерских и перинатальных исходов при заднем виде затылочного предлежания плода.

Ключевые слова: задний вид, затылочное предлежание, аномалии родовой деятельности, клинический узкий таз, оперативное родоразрешение.

Образец цитирования: Мудров В.А., Якимова А.В. Технология прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):56–66. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-56-66

Technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation

V.A. Mudrov, A.V. Yakimova

¹Chita State Medical Academy, Chita, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Delivery in the fetal occiput posterior presentation is a subject of close attention of obstetricians and gynecologists. Despite the classification of this category of childbirth as physiological, the outcome directly depends on the

Поступила в редакцию 08.07.2021
Прошла рецензирование 09.09.2022
Принята к публикации 29.09.2022

Автор, ответственный за переписку
Мудров Виктор Андреевич: ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России. 672000, г. Чита, ул. Горького, 39А.
E-mail: mudrov_viktor@mail.ru

Received 08.07.2021
Revised 09.09.2022
Accepted 29.09.2022

Corresponding author
Viktor A. Mudrov: Chita State Medical Academy, 39A, Gorkogo str., Chita, 672000, Russia.
E-mail: mudrov_viktor@mail.ru

transition of the occiput posterior position to the occiput anterior one during labor. Persistence of the posterior position is a risk factor for operative delivery.

A i m . Development of a technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation.

M a t e r i a l s a n d M e t h o d s . A prospective analysis of 118 cases of childbirth in the period 2018–2021 was carried out at the Perinatal Center of the Regional Clinical Hospital, Chita. The total sample was divided into 3 groups: group 1 included 80 parturient women with the fetal occiput anterior presentation; group 2 included 18 patients with the fetal occiput posterior presentation, during the delivery of which there was a turn into the anterior position; group 3 included 20 parturient women with the fetal occiput posterior presentation, during the delivery of which a turn to the anterior position did not occur. The groups were comparable in age and extragenital pathology. All women underwent physical and ultrasound examination 1–2 days ahead of the delivery.

R e s u l t s . The technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation is implemented on the basis of a multilayer perceptron, the rate of incorrect predictions in the learning process of which was 11.1%. The structure of the trainable neural network included 8 input neurons: parity of childbirth, height, body weight and distantia spinarum of a woman, biparietal diameter and femur length of a fetus, presence or absence of pre-induction of labor.

C o n c l u s i o n . An integrated approach based on neural network analysis of the history, as well as data of physical and ultrasound examinations, makes it possible to predict the outcome of labor with an accuracy of up to 90.0% in the fetal occiput posterior presentation. The use of this technology in clinical practice will reduce the incidence of adverse obstetric and perinatal outcomes in the fetal occiput posterior presentation.

Keywords: posterior position, occipital presentation, abnormal labor, contracted pelvis, operative delivery.

Citation example: Mudrov V.A., Yakimova A.V. Technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):56–66. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-56-66

ВВЕДЕНИЕ

Роды в заднем виде затылочного предлежания плода являются предметом пристального внимания врачей акушеров-гинекологов [1]. В отечественной практике их принято считать физиологическими. Между тем причинами образования заднего вида, согласно данным В.Е. Радзинского и А.М. Фукса, являются изменения формы и емкости малого таза, функциональная неполноценность мышц матки, особенности формы головки плода, недоношенный или мертвый плод [2]. В конечном итоге только в 1 % всех случаев затылочного предлежания ребенок рождается в заднем виде через естественные родовые пути [2]. Иностранные авторы относят их к так называемым аномалиям поворота, так как они сопровождаются высокой частотой слабости родовой деятельности, оперативного родоразрешения, травматизма родовых путей, а также неблагоприятных интранатальных исходов. Частота родов в заднем виде затылочного вставления головки плода за последнее десятилетие увеличилась в 3.4 раза, что позволяет считать данную проблему актуальной [2, 3].

Несмотря на отнесение данной категории родов к физиологическим, исход напрямую зависит от перехода заднего вида в передний в процессе родов. Сохранение заднего вида, согласно данным О.С. Арнт и В.М. Болотских,

INTRODUCTION

Delivery in the fetal occipitoposterior presentation is a subject of close attention for obstetrician-gynecologists [1]. In domestic practice they are considered to be physiological. Meanwhile, the reasons for the formation of the posterior position, according to Radzinsky and Fuks, are changes in the shape and capacity of the true pelvis, functional inferiority of the muscles of the uterus, features of the shape of the fetal head, premature or still birth [2]. Ultimately, only in 1% of all cases of occiput presentation, a child is born in the posterior position through the parturient canal [2]. Foreign authors refer them to the so-called rotation abnormalities, as they are accompanied with a high frequency of uterine inertia, operative delivery, birth canal injuries and adverse intranatal outcomes. The frequency of labor in the occiput posterior position has increased by 3.4 times over the past decade, which allows us to consider this problem as a recent one [2, 3].

Despite the classification of this category of labor as physiological, the outcome directly depends on the transition from the posterior to the anterior position during childbirth. The persistence of the posterior position, according to Arnt and Bolotskikh, is a risk factor for operative delivery [1]. The authors' studies indicate that delivery in the fetal occiput posterior presentation requires an emergency caesarean

является фактором риска оперативного родоразрешения [1]. Исследования авторов свидетельствуют о том, что роды в заднем виде затылочного вставления головки плода в 72.4 % случаев требуют выполнения экстренного кесарева сечения (нормированное значение коэффициента Пирсона – 0.72). По данным ряда авторов частота вступления в роды в заднем виде затылочного предлежания плода составляет от 2 до 41 %. Завершение родов в заднем виде затылочного предлежания плода наблюдается в 2–8 % случаев [4, 5]. Подобный разброс, по нашему мнению, в первую очередь связан со сложностью диагностики заднего вида, которая может быть затруднена целым плодным пузырем, выраженной конфигурацией головки, наличием родовой опухоли, а также снижением тактильной чувствительности при проведении влагалищного исследования в перчатках. Оптимальным в данной ситуации представляется использование ультразвукового исследования, позволяющего не только достоверно определить вид предлежания и позицию, но и другие особенности вставления головки плода в процессе родов [4, 6].

В исследовании Е.А. Морозовой и А.В. Петровой в результате анализа неврологического статуса детей, рожденных в заднем виде, сделан вывод, что пришло время пересмотреть акушерскую тактику ведения родов при заднем виде затылочного предлежания плода [7]. По мнению исследователей, в отечественной практике незаслуженно мало внимания уделяется данной проблеме. Кефалогематомы у детей, рожденных в заднем виде, наблюдались в 11.1 % случаев, кривошея – в 16.6 %, мышечная гипотония – в 50.0 %, пирамидная недостаточность – в 19.4 %, признаки дисциркуляторно-геморрагического синдрома – в 13.8 %. При динамическом осмотре в 1 и 3 мес мышечная гипотония наблюдалась у 36.1 % младенцев, пирамидная недостаточность – у 50.0 %, кривошея – у 8.3 %, двухсторонний паралич – у 2.7 %. Несмотря на возможности современной медицины, тема натальной травмы при родах в заднем виде затылочного предлежания остается актуальной, и только предиктивная медицина может профилактировать развитие родового травматизма и последующей инвалидности [1, 7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка технологии прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода.

section in 72.4% of cases (the normalized value of the Pearson's coefficient is 0.72). According to a number of authors, the frequency of delivery in the occipitoposterior position ranges from 2 to 41%. Completion of labor in the occiput posterior position of is observed in 2–8% of cases [4, 5]. In our opinion, such a variability is primarily due to the complexity of diagnosing the posterior position, which can be hampered by an intact amniotic sac, pronounced configuration (moulding) of the head, presence of a labor tumor, as well as a decrease in tactile sensitivity when performing vaginal examination in gloves. The optimum in this situation is the use of ultrasound, which allows not only to reliably determine the type of presentation and position, but also other features of the engagement of the fetal head during childbirth [4, 6].

In the study of Morozova and Petrova, as a result of the analysis of the neurological status of children born in the posterior position, concluded that the time has come to reconsider the obstetric tactics of labor management in the fetal occiput posterior presentation [7]. According to researchers, in domestic practice, an undeservedly little attention is paid to this problem. Cephalohematomas in children born in the posterior position were observed in 11.1% of cases, torticollis – in 16.6%, muscular hypotension – in 50.0%, pyramidal syndrome – in 19.4%, signs of dyscirculatory and hemorrhagic encephalopathy – in 13.8%. During dynamic examination at 1 and 3 months, muscular hypotension was observed in 36.1% of infants, pyramidal insufficiency – in 50.0%, torticollis – in 8.3%, and bilateral paralysis – in 2.7%. Despite the possibilities of modern medicine, the topic of natal injury during childbirth in the occiput posterior presentation remains relevant, and only predictive medicine can prevent the development of birth injuries and subsequent disability [1, 7].

AIM OF THE RESEARCH

Development of a technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation.

MATERIALS AND METHODS

A prospective analysis of 118 cases of childbirth at 37–41 weeks gestation in the period 2018–2021 was carried out at the Perinatal Center of the Regional Clinical Hospital, Chita. The total sample was divided into 3 groups: group 1 included 80 parturient women with the fetal occiput anterior presentation; group 2 included 18 patients with the fetal occiput posterior presentation, and the turn

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе перинатального центра ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Чита проведен проспективный анализ 118 случаев родов в сроке беременности 37–41 нед в период 2018–2021 гг. Общая выборка была разделена на три исследуемые группы: 1-я группа включала 80 рожениц с передним видом затылочного предлежания плода; 2-я группа – 18 пациенток с задним видом затылочного предлежания плода, в процессе родоразрешения которых произошел поворот в передний вид; 3-я группа – 20 рожениц с задним видом затылочного предлежания плода, в процессе родоразрешения которых поворот в передний вид не произошел. Всем женщинам проводилось общее и специальное акушерское исследование в соответствии с действующими клиническими рекомендациями, утвержденными Министерством здравоохранения Российской Федерации [8]. Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту, сроку гестации и экстрагенитальной патологии. Перед проведением комплекса необходимых исследований получено информированное добровольное согласие пациенток на участие в исследовании. Работа выполнена в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской организации (2013 г.). Критериями включения в исследование явились: доношенный срок беременности, затылочное предлежание плода. Критериями исключения явились: преждевременные роды, тазовое предлежание плода, неправильные положения плода, неправильное вставление головки плода, рубец на матке, предлежание плаценты, многоплодная беременность, аномалии развития половых органов, тяжелая экстрагенитальная патология, травмы таза в анамнезе, онкологические заболевания.

Пельвио- и антропометрия проводились накануне родов (1–2 дня) по общепринятой методике [2, 8]. Ультразвуковая фетометрия проводилась также накануне родов (1–2 дня) на аппарате экспертного класса Voluson S8 (GE Healthcare, USA). Ультразвуковая фето-, плаценто- и амниометрия проводилась конвексным датчиком с частотой преобразователя 2–5 МГц трансабдоминальным доступом. Любые измерения производились трижды, после чего вычислялось среднее значение соответствующего ультразвукового параметра. Ультразвуковое исследование в процессе родов проводилось с помощью портативного аппарата высокого класса MySono U5 (Samsung Medison, Корея). Эхографическое исследование проводилось конвексным датчиком с частотой

into the anterior position during the delivery; group 3 included 20 parturient women with the fetal occiput posterior presentation, during the delivery of which a turn into the anterior position did not occur. All women underwent a general and obstetric examination in accordance with current clinical guidelines approved by the Ministry of Health of the Russian Federation [8]. The studied groups were comparable in age, gestational age and extragenital pathology. Before the necessary examinations, informed voluntary consent of the patients to participate in the study was obtained. The work was performed in accordance with the requirements of the World Medical Association Declaration of Helsinki (2013). The inclusion criteria for the study were: full-term pregnancy, occiput presentation of the fetus. The exclusion criteria were: preterm birth, breech presentation of the fetus, malposition of the fetus, abnormal engagement of the fetal head, scar on the uterus, placenta previa, multiple pregnancy, anomalies in the development of the genital organs, severe extragenital pathology, history of pelvic trauma, oncological diseases.

Pelvio- and anthropometry were performed shortly before the delivery (1–2 days) according to the conventional method [2, 8]. Ultrasound fetometry was also performed 1–2 days ahead of the delivery using a Voluson S8 expert device (GE Healthcare, USA). Ultrasound assessment of the fetus, placenta and amniotic fluid was carried out with a convex probe with a transducer frequency of 2–5 MHz via transabdominal access. Every measurement was made three times, after which the average value of the corresponding ultrasonic parameter was calculated. Ultrasound examination during delivery was carried out using a high-end portable MySono U5 device (Samsung Medison, Korea). An ultrasound examination was carried out with a convex probe with a transducer frequency of 3.5–5.0 MHz, via translabial access in the sagittal position of the probe. The satisfactory position of the probe was confirmed by the simultaneous visualization of the pubic symphysis and the fetal head on the monitor screen. An ultrasound examination was performed according to the conventional technique, and made it possible to confirm the presence of the fetal occiput posterior presentation (Fig. 1) [9].

When performing statistical analysis, the authors were guided by the principles of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) and the recommendations of Lang, Altman (SAMPL) [10, 11]. The analysis of the normality of the distribution of signs, taking into account the predominant study group size (less than 50 par-

преобразователя 3.5–5.0 МГц, транслабиальным доступом в сагиттальной позиции датчика. Удовлетворительное положение датчика подтверждалось фактом одновременной визуализации на экране монитора лонного симфиза и головки плода. Эхографическое исследование проводилось по общепринятой методике и позволяло подтвердить наличие заднего вида затылочного предлежания головки плода (рис. 1) [9].

При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями Т.А. Lang, D.G. Altman (SAMPL) [10, 11]. Анализ нормальности распределения признаков, с учетом преимущественной численности исследуемых групп (менее 50), проводился путем оценки критерия Шапиро – Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me [Q₁; Q₃]. Для сравнения трех независимых групп по одному количественному признаку использовался ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису (*H*). При наличии статистически значимых различий в дальнейшем с учетом поправки Бонферрони проводилось попарное сравнение двух независимых групп с помощью критерия Манна – Уитни (*U*). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых

группах), was carried out by evaluating the Shapiro-Wilk test. Taking into account the distribution of signs that is different from normal in all the studied groups, the data obtained are presented as the median, the first and third quartiles: Me [Q₁; Q₃]. To compare three independent groups by one quantitative trait, the Kruskal-Wallis (*H*) rank sum test was used. Later on, if there were statistically significant differences, and taking into account the Bonferroni correction, a pairwise comparison of two independent groups was carried out using the Mann-Whitney test (*U*). Nominal data were described with absolute values and percentages. Comparison of nominal study data was carried out using the Pearson χ^2 test, which allows us to assess the significance of differences between the actual number of outcomes or qualitative characteristics of the sample in each category, and the theoretical number that can be expected in the study groups if the null hypothesis is true. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Statistically significant parameters were included in the test database, which formed the basis for training a multilayer perceptron, which makes it possible to predict the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation. Statistical processing of the study results was carried out using the IBM SPSS Statistics 25.0 software package (International Business Machines Corporation, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

It is noteworthy that statistically significant differences in the studied groups were observed only when evaluating the results of ultrasonic fetometry (Table 1).

Analyzing the data in Table 1, we can assume that the significance of differences in fetometric parameters in the studied groups is associated with the pre-

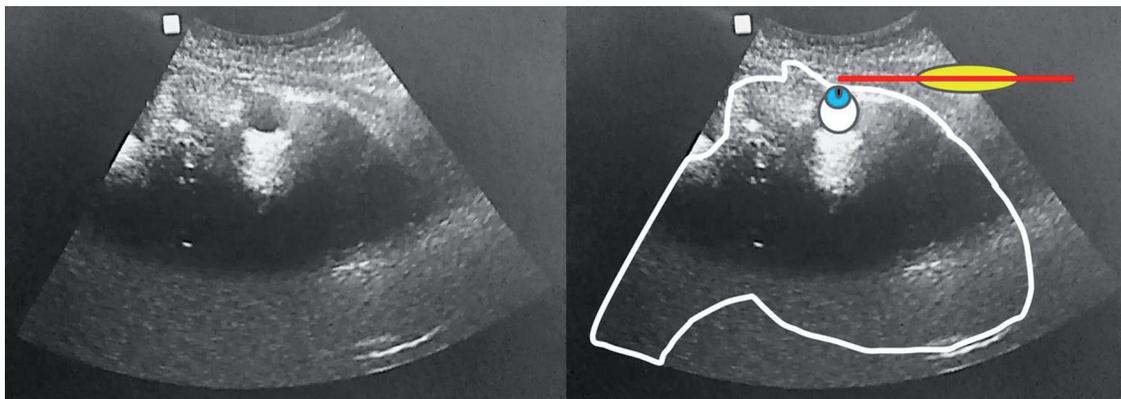


Рис. 1. Методика подтверждения заднего вида затылочного предлежания путем трансабдоминального ультразвукового исследования

Fig. 1. Technique for confirming the occiput posterior presentation by transabdominal ultrasound

мых группах при справедливости нулевой гипотезы. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Статистически значимые параметры были включены в тестовую базу данных, которая легла в основу обучения многослойного перцептрона, позволяющего прогнозировать исход родов при заднем виде затылочного предлежания плода. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обращает на себя внимание тот факт, что статистически значимые различия в исследуемых группах наблюдались только при оценке результатов ультразвуковой фетометрии (табл. 1).

Анализируя данные табл. 1, можно предположить, что значимость различий фетометрических показателей в исследуемых группах связана с преобладанием задержки роста плода в 3-й группе. Однако данный факт не получил своего подтверждения (табл. 2).

Следовательно, значимое различие бипариетального размера головки и длины бедра плода в исследуемых группах, вероятно, было связано с индивидуальными особенностями строения их тела.

Преиндукция родов в 1-й группе имела место в 10.0 % случаев (8 / 80), во 2-й группе – в 44.4 % (8/18), в 3-й группе – в 15.0 % (3/20) случаев ($\chi^2 = 12.93$, $df = 2$, $p = 0.002$); индукция родов – в 13.8 % (11/80), 27.8 % (5/18) и 5.0 % (1/20) случаев соответственно ($\chi^2 = 4.07$, $df = 2$, $p = 0.13$). Высокая частота преиндукции при заднем виде затылочного предлежания плода свидетельствует об отсутствии биологической готовности организма к родам. Между тем обращает на себя внимание тот факт, что преиндукция родов при заднем виде затылочного предлежания зачастую приводит к формированию более благоприятного вставления головки плода и, соответственно, меньшей частоте осложнений родового акта. Данный факт также подтверждается высокой частотой осложнений процесса родов в 3-й исследуемой группе (табл. 3).

Высокая частота вторичной родовой слабости и клинически узкого таза при заднем виде затылочного вставления связана с тем, что головка плода вставляется большим, чем малый косой, размером, и для завершения родов требуется дополнительное сгибание головки [2]. Высокая частота осложнений родов логичным образом

dominance of fetal growth restriction in the group 3. However, this fact has not been confirmed (Table 2).

Therefore, a significant difference in the biparietal diameter of the head and the femur length of the fetus in the studied groups was probably associated with the individual morphological characteristics of their bodies.

Pre-induction of labor in group 1 occurred in 10.0% of cases (8/80), in group 2 – in 44.4% (8/18), in group 3 – in 15.0% (3/20) of cases ($\chi^2 = 12.93$, $df = 2$, $p = 0.002$); induction of labor – in 13.8% (11/80), 27.8% (5/18) and 5.0% (1/20) of cases respectively ($\chi^2 = 4.07$, $df = 2$, $p = 0.13$). The high frequency of pre-induction in the fetal occiput posterior presentation indicates a lack of biological readiness of the body for childbirth. Meanwhile, attention is drawn to the fact that pre-induction of labor in the occiput posterior presentation often leads to the formation of a more favorable engagement of the fetal head and, accordingly, a lower incidence of complications. This fact is also confirmed by the high rate of birth complications in the 3rd studied group (Table 3).

The high rate of secondary uterine inertia and cephalopelvic disproportion in posterior occiput engagement is due to the fact that the fetal head is engaged with the diameter, larger than the suboccipitobregmatic one, and an additional flexion of the head is required for the birth completion [2]. The high rate of labor complications have a logical impact on the rate of surgical delivery: the proportion of cesarean section in the 1st group was 22.5% of cases (18/80), in the 2nd group – 5.6% (1/18), in the 3rd group – 75.0% (15/20) ($\chi^2 = 24.1$, $df = 2$, $p < 0.001$). The main indication for the caesarean section was the deterioration of the fetus condition due to dystocia and cephalopelvic disproportion. This fact indicates that the fetal head rotation from the posterior to the anterior position should be considered as a factor that affects the outcome of childbirth favorably. This can be confirmed by comparing parameters of the fetus well-being assessment with the Apgar score in groups, in the absence of significant differences in the final weight and height of the newborn in the studied groups (Table 4).

The assessment of differences in the duration of labor in the studied groups does not make sense due to the high frequency of operative delivery in patients of the 3rd group.

Taking into account the high frequency of unfavorable outcomes in the posterior occiput engagement during delivery, it was decided to develop a technology for predicting an unfavorable outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation. The

Таблица 1. Значение изучаемых параметров в исследуемых группах
Table 1. The values of the assessed parameters in the studied groups

Показатель Parameter	1-я группа Group 1 (n = 80)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 20)	Тестовая статистика, Test statistics, df = 2
Возраст женщины, лет Woman age, years	30.0 [29.5; 31.9]	30.0 [28.9; 33.9]	30.0 [26.0; 35.4]	H = 2.04 p = 0.36
Предстоящие роды, абс. число Upcoming delivery, absolute number	2.0 [2.0; 2.5]	2.0 [1.3; 1.9]	2.5 [1.8; 3.5]	H = 1.74 p = 0.42
Масса тела женщины, кг Woman body weight, kg	90.1 [84.7; 91.6]	78.0 [73.7; 89.9]	69.4 [64.9; 73.0]	H = 4.21 p = 0.12
Рост женщины, см Woman height, cm	162.0 [160.8; 163.1]	164.0 [162.0; 166.0]	161.0 [155.4; 161.6]	H = 2.91 p = 0.23
ИМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²	34.4 [32.2; 35.0]	29.6 [28.3; 33.7]	27.4 [26.5; 28.2]	H = 3.24 p = 0.2
D. spinarum, см (cm)	26.0 [25.5; 26.2]	25.0 [24.4; 26.0]	24.5 [23.3; 24.7]	H = 5.49 p = 0.06
D. cristarum, см (cm)	29.0 [28.7; 29.5]	28.0 [27.1; 29.0]	27.0 [26.2; 27.8]	H = 2.24 p = 0.33
D. trochanterica, см (cm)	33.0 [32.1; 33.3]	31.0 [30.8; 33.2]	31.0 [30.1; 31.9]	H = 2.97 p = 0.23
Conjugata externa, см (cm)	22.0 [21.4; 22.1]	20.0 [20.0; 20.7]	20.0 [19.1; 20.2]	H = 0.78 p = 0.68
Окружность живота, см Abdominal circumference, cm	108.0 [106.1; 110.6]	97.0 [95.5; 105.3]	95.0 [91.1; 99.9]	H = 3.94 p = 0.14
Высота дна матки, см Symphysis-fundal height, cm	36.0 [35.5; 36.5]	36.0 [33.2; 39.6]	35.5 [34.7; 36.7]	H = 0.37 p = 0.83
Срок гестации, нед Gestational age, weeks	39.0 [38.7; 39.2]	39.0 [38.6; 39.1]	39.0 [38.7; 39.1]	H = 0.44 p = 0.79
Бипариетальный размер головки плода, мм Biparietal diameter of the fetal head, mm	92.0 [90.7; 92.1]	93.0 [85.5; 95.3]	84.5 [79.1; 86.5]	H = 9.39 p = 0.009
Окружность головки плода, мм Fetal head circumference, mm	332.0 [329.6; 336.7]	334.0 [315.1; 348.9]	312.0 [279.1; 322.2]	H = 5.28 p = 0.07
Длина бедра плода, мм Fetal femur length, mm	72.0 [71.2; 72.9]	74.0 [66.5; 75.1]	62.5 [60.2; 65.8]	H = 11.25 p = 0.004

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; D. – distantia.
Note. BMI – body mass index; D. – distantia.

Таблица 2. Частота патологии беременности в исследуемых группах, % (абс. число)
Table 2. Prevalence of pregnancy pathology in the studied groups, % (absolute number)

Клиническая картина Clinical picture	1-я группа Group 1 (n = 80)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 20)	Тестовая статистика, Test statistics, df = 2
Задержка роста плода Fetal growth restriction	12.5 (10)	16.7 (3)	20.0 (4)	$\chi^2 = 0.82$ p = 0.66
Крупный плод Big fetus	22.5 (18)	22.2 (4)	20.0 (4)	$\chi^2 = 0.06$ p = 0.97
Многоводие Polyhydramnios	3.8 (3)	5.6 (1)	0.0 (0)	$\chi^2 = 0.99$ p = 0.61
Маловодие Oligohydramnios	21.3 (17)	27.8 (5)	15.0 (3)	$\chi^2 = 0.93$ p = 0.63

Таблица 3. Частота осложнений родов в исследуемых группах, % (абс. число)
Table 3. Prevalence of birth complications in the studied groups, % (absolute number)

Клиническая картина Clinical picture	1-я группа Group 1 (n = 80)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 20)	Тестовая статистика, Test statistics, df = 2
Дородовое излитие околоплодных вод Premature rupture of the membranes	13.8 (11/80)	22.2 (4/18)	30.0 (6/20)	$\chi^2 = 3.17$ $p = 0.21$
Дискоординация родовой деятельности Labor dystocia	8.7 (7/80)	5.6 (1/18)	10.0 (2/20)	$\chi^2 = 0.27$ $p = 0.88$
Первичная слабость родовой деятельности Primary uterine inertia	12.5 (10/80)	27.8 (5/18)	20.0 (4/20)	$\chi^2 = 2.81$ $p = 0.25$
Вторичная слабость родовой деятельности Secondary uterine inertia	2.5 (2/80)	11.1 (2/18)	40.0 (8/20)	$\chi^2 = 24.65$ $p < 0.001$
Чрезмерно сильная родовая деятельность Excessively strong labor activity	10.0 (8/80)	11.1 (2/18)	5.0 (1/20)	$\chi^2 = 0.55$ $p = 0.76$
Клинически узкий таз Contracted pelvis	8.7 (7/80)	5.6 (1/18)	25.0 (5/20)	$\chi^2 = 4.96$ $p = 0.08$

сказывается на частоте оперативного родоразрешения: частота кесарева сечения в 1-й группе составила 22.5 % случаев (18/80), во 2-й группе – 5.6 % (1/18), в 3-й группе – 75.0 % (15/20) ($\chi^2 = 24.1$, $df = 2$, $p < 0.001$). Основным показанием для кесарева сечения являлось ухудшение состояния плода на фоне аномалий родовой деятельности и клинически узкий таз. Данный факт свидетельствует о том, что поворот головки плода из заднего в передний вид следует рассматривать как фактор, благоприятно влияющий на исход родов. Это можно подтвердить сравнением оценки состояния плода по шкале Апгар в группах, при отсутствии значимых различий конечной массы и роста новорожденного в исследуемых группах (табл. 4).

need for emergency operative delivery, as well as the birth of a newborn in a state of asphyxia, were considered as an unfavorable outcome.

The technology for predicting an unfavorable outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation is implemented on the basis of a multilayer perceptron, the percentage of incorrect predictions in the learning process of which was 11.1. The structure of the trained neural network included 8 input neurons, one hidden layer containing 2 units, and 2 output neurons (Fig. 2).

The activation function in the hidden layer of the multilayer perceptron (see Fig. 2) was the hyperbolic tangent, in the output layer it was Softmax, and the error function was the cross entropy. Based on the values of the predicted pseudo-probability, the neu-

Таблица 4. Значение показателей новорожденных в исследуемых группах
Table 4. Parameters of newborns in the study groups

Показатель Parameter	1-я группа Group 1 (n = 80)	2-я группа Group 2 (n = 18)	3-я группа Group 3 (n = 20)	Тестовая статистика, Test statistics, df = 2
Масса новорожденного, г Newborn weight, g	3280.0 [3243.5; 3393.6]	3430.0 [3239.8; 3546.9]	3205.0 [2771.7; 3270.8]	$H = 1.78$ $p = 0.41$
Рост новорожденного, см Newborn height, cm	51.0 [50.5; 51.4]	51.5 [50.6; 52.3]	50.5 [47.5; 50.9]	$H = 1.85$ $p = 0.4$
Оценка по шкале Апгар в конце 1-й минуты, баллы Apgar score at the 1st minute, points	8.0 [8.0; 8.5]	8.5 [8.3; 8.6]	8.0 [6.8; 8.0]	$H = 8.08$ $p = 0.02$
Оценка по шкале Апгар в конце 5-й минуты, баллы Apgar score at the 5th minute, points	9.0 [8.8; 9.1]	9.0 [8.9; 9.3]	8.0 [7.7; 8.6]	$H = 9.05$ $p = 0.01$

Оценка различий продолжительности периодов родов в исследуемых группах не имеет смысла ввиду высокой частоты оперативного родоразрешения пациенток в 3-й исследуемой группе.

Учитывая высокую частоту неблагоприятных исходов при сохранении заднего вида затылочного вставления головки плода в процессе родов, было решено разработать технологию, направленную на прогнозирование неблагоприятного исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода. В качестве неблагоприятного исхода рассматривали необходимость проведения экстренного оперативного родоразрешения, а также рождение новорожденного в состоянии асфиксии.

Технология прогнозирования неблагоприятного исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода реализована на базе многослойного персептрона, процент неверных предсказаний в процессе обучения которого составил 11.1. Структура обучаемой нейронной сети включала 8 входных нейронов, один скрытый слой, содержащий 2 единицы, и 2 выходных нейрона (рис. 2).

ral network has no problems in differentiating the probability between a favorable and an unfavorable outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation (Fig. 3).

Also noteworthy is the fact that the resulting neural network is of high value both for predicting favorable and unfavorable outcomes of labor (Table 5).

In testing the neural network on a sample of patients consisting of 10 people, the percentage of incorrect predictions was 10.0 (1/10), which is consistent with the results of the neural network training.

CONCLUSION

An integrated approach based on neural network analysis of the anamnesis, as well as physical and ultrasound examinations data, makes it possible to predict the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation with an accuracy of up to 90.0%. Evaluation of this prognosis allows not only to choose the optimal mode of delivery, but also to assess the feasibility of pre-induction of labor.

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

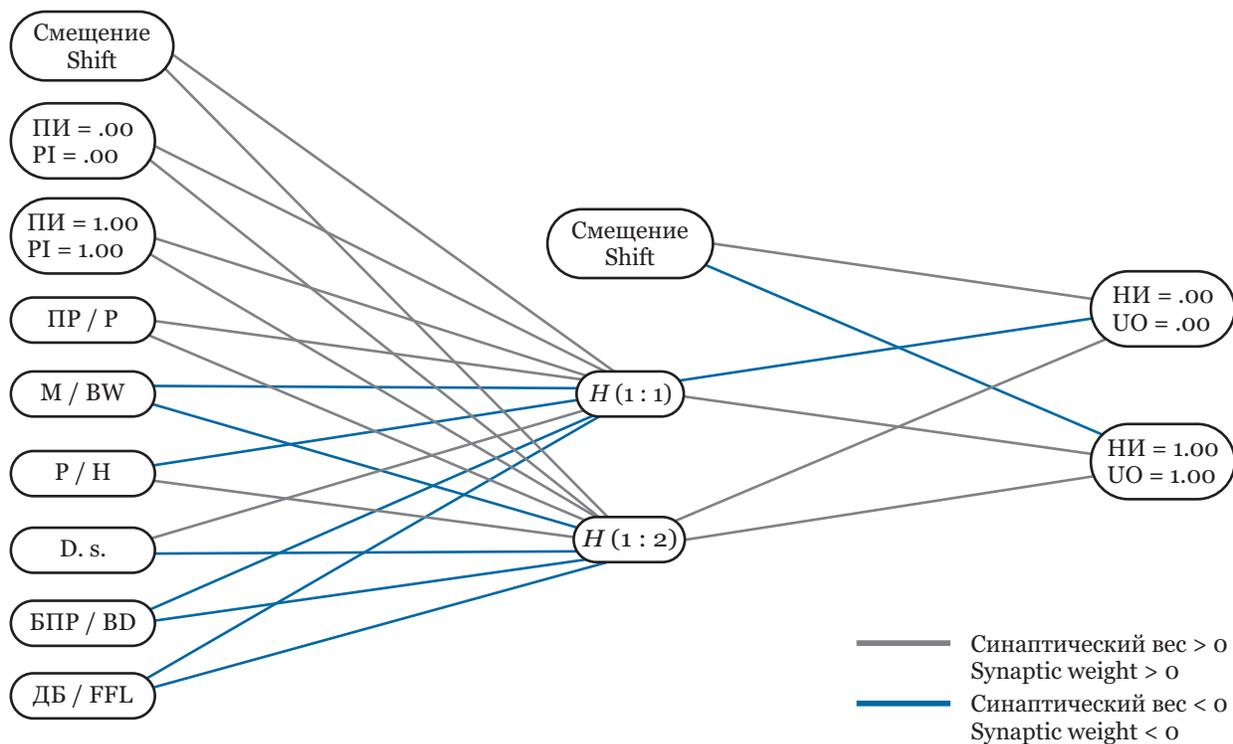


Рис. 2. Конфигурация многослойного персептрона (ПИ — преиндукция, ПР — паритет родов, М — масса тела женщины, Р — рост женщины, D. s. — d. spinarum, БПР — бипариетальный размер головки плода, ДБ — длина бедра плода, НИ — неблагоприятный исход)

Fig. 2. Multilayer perceptron configuration (PI – pre-induction, P – parity, BW – body weight of a woman, H – height of a woman, D. s. – distantia spinarum, BD – biparietal dimeter of the fetal head, FFL – fetal femur length, UO – unfavorable outcome).

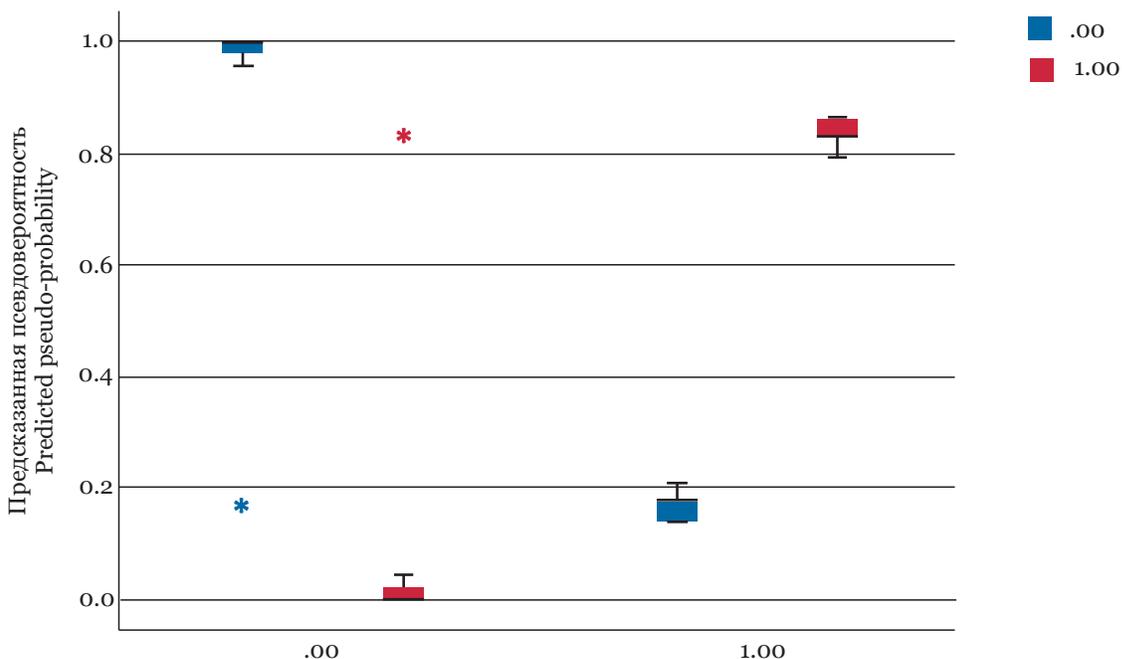


Рис. 3. Оценка предсказанной псевдовероятности развития неблагоприятного исхода в исследуемых группах
Fig. 3. Assessment of the predicted pseudo-probability developing of an unfavorable outcome in the studied groups

Таблица 5. Информативность разработанной технологии прогнозирования исхода родов при заднем виде затылочного предлежания плода

Table 5. Informativeness of the developed technology for predicting the outcome of labor in the fetal occiput posterior presentation

Исход родов Outcome of labor	AUC	Статистическая значимость p Statistical significance p	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity
Благоприятный Favorable	0.90	<0.001	0.83	1.00
Неблагоприятный Unfavorable	0.90	<0.001	1.00	0.83

В качестве функции активации в скрытом слое многослойного перцептрона (см. рис. 2) выступал гиперболический тангенс, в выходном слое – Softmax, в качестве функции ошибки – перекрестная энтропия. Исходя из значений предсказанной псевдовероятности, нейросеть не испытывает проблем в дифференциации вероятности между благоприятным и неблагоприятным исходом родов при заднем виде затылочного предлежания плода (рис. 3).

Также обращает на себя внимание тот факт, что полученная нейронная сеть обладает высокой ценностью как для прогнозирования благоприятного, так и неблагоприятного исхода родов (табл. 5).

В процессе тестирования нейронной сети на выборке пациенток, состоящей из 10 чел., процент неверных предсказаний составил 10.0 (1/10),

что согласуется с результатами обучения нейронной сети.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексный подход, основанный на нейросетевом анализе анамнеза, а также данных объективного и ультразвукового исследования, позволяет с точностью до 90.0 % прогнозировать исход родов при заднем виде затылочного предлежания плода. Оценка данного прогноза позволяет не только выбрать оптимальный метод родоразрешения, но и оценить целесообразность проведения преиндукции родов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арнт О.С., Болотских В.М. Предикторы сохранения заднего вида затылочного вставления головки плода в родах // Журн. акушерства и женских болезней. 2017;66(3):34–41. doi: 10.17816/JOWD66334-41.
2. Акушерство: учебник / под ред. В.Е. Радзинского, А.М. Фукса. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 1040 с.
3. Оперативное акушерство Манро Керра / под ред. М.А. Курцера; пер. с англ. П.И. Медведевой. М.: Рид Элсивер, 2015. 392 с.
4. Арнт О.С., Тройк Е.Б., Гаджиева Т.С. Задний вид затылочного предлежания плода // Журн. акушерства и женских болезней. 2014;63(2):12–21. doi: 10.17816/JOWD63212-21.
5. Gardberg M., Leonova Y., Laakkonen E. Malpresentations – impact on mode of delivery // Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2011;90(5):540–542. doi: 10.1111/j1600-0412.2011.01105x.
6. Guittier M.J., Othenin-Girard V. Correcting occiput posterior position during labor: the role of maternal positions // Gynecol. Obstet. Fert. 2012;40(4):255–260. doi: 10.1016/j.gyobfe.2011.05.006.
7. Морозова Е.А., Петрова А.В. Неврологический статус детей, рожденных в заднем виде головного предлежания // Детская и подростковая реабилитация. 2017;3(31):11–14.
8. Оказание медицинской помощи при одноплодных родах в затылочном предлежании (без осложнений) и в послеродовом периоде: Клинические рекомендации (протокол лечения), утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации 6 мая 2014 г. М., 2014. URL: <https://minzdrav.ryazangov.ru/upload/iblock/861/odnoplodnye-rody-v-zatylochnom-predlezhanii.pdf> (дата обращения: 15.10.2021).
9. Мерц Э. Ультразвуковая диагностика в акушерстве и гинекологии. М.: МЕДпресс-информ, 2016. 719 с. Т. 1: Акушерство.
10. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication. International Committee of Medical Journal Editors (updated Oct. 2008). URL: <https://www.icjme.org> (дата обращения: 15.10.2021).
11. Lang T.A., Altman D.G. Statistical analyses and methods in the published literature: The SAMPL guidelines // Med. Writing. 2016;25(3):31–36. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мудров Виктор Андреевич – канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Чита, Россия.

Якимова Анна Валентиновна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

REFERENCES

1. Arnt O.S., Bolotskikh V.M. The intrapartum fetal occiput posterior position predictors. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(3):34–41. doi: 10.17816/JOWD66334-41. (In Russ.)
2. Radzinsky V.E., Fuks A.M. (eds.) (2016). *Obstetrics: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media. 1040 p. (In Russ.)
3. Kurtser M.A. (ed.) (2015). *Munro Kerr's Operative Obstetrics* (P.I. Medvedeva, Trans. from English). Moscow: Read Elsevier. 392 p.
4. Arnt O.S., Troik E.B., Gadzhiev T.S. The fetal occiput posterior position. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2014;63(2):12–21. doi: 10.17816/JOWD63212-21. (In Russ.)
5. Gardberg M., Leonova Y., Laakkonen E. Malpresentations – impact on mode of delivery. *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 2011;90(5):540–542. doi: 10.1111/j1600-0412.2011.01105x.
6. Guittier M.J., Othenin-Girard V. Correcting occiput posterior position during labor: the role of maternal positions. *Gynecol. Obstet. Fert.* 2012;40(4):255–260. doi: 10.1016/j.gyobfe.2011.05.006.
7. Morozova E.A., Petrova A.V. Actual issues of the fetal occiput posterior position delivery, neonatal outcomes. *Child and Adolescent Rehabilitation*. 2017;3(31):11–14. (In Russ.)
8. Healthcare delivery in single births in the occiput posterior position (without complications) and in the postpartum period: Clinical recommendations (treatment protocol), approved by the Ministry of Health of the Russian Federation on May 6, 2014. Moscow, 2014. URL: <https://minzdrav.ryazangov.ru/upload/iblock/861/odnoplodnye-rody-v-zatylochnom-predlezhanii.pdf> (accessed 15.10.2021).
9. Mertz E. (2016). *Ultrasound Diagnostics in Obstetrics and Gynecology*. Moscow: MEDpress-inform. Vol. 1: Obstetrics. 719 p. (In Russ.)
10. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication. International Committee of Medical Journal Editors (updated Oct. 2008). URL: <https://www.icjme.org> (accessed 15.10.2021).
11. Lang T.A., Altman D.G. Statistical analyses and methods in the published literature: The SAMPL guidelines. *Med. Writing*. 2016;25(3):31–36. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4.

ABOUT THE AUTHORS

Viktor A. Mudrov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

Anna V. Yakimova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Анализ ценовых характеристик монокомпонентных пероральных сахароснижающих средств на фармацевтическом рынке Республики Крым

Е.А. Егорова¹, Л.Н. Шейхмамбетова¹, С.Н. Егорова², Э.Ю. Бекирова¹

¹Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. В настоящее время в Республике Крым сахарный диабет является одним из наиболее распространенных социально-значимых заболеваний. Заболеваемость населения республики сахарным диабетом в 2019 г. составила 354.6 на 100 тыс. чел., превысив показатели предыдущего года более чем на 50 %.

Цель. Ценовой анализ ассортимента монокомпонентных пероральных сахароснижающих средств (ПССС), представленных на фармацевтическом рынке Республики Крым.

Материалы и методы. Объектом исследования, которое проводилось в 1-й половине 2021 г., являлся ассортимент монокомпонентных ПССС, представленный в аптечных организациях на территории Республики Крым. Источником информации о стоимости отдельных лекарственных препаратов (ЛП), применяющихся при сахарном диабете 2-го типа, стали средние значения розничных цен региональных специализированных аптечных организаций – обществ с ограниченной ответственностью «Аптека Мартана» и «Семейная аптека».

Результаты. Рынок ПССС Республики Крым представлен 55 торговыми наименованиями монокомпонентных ЛП, среди которых преобладают препараты группы бигуанидов (16 торговых наименований), производных сульфонилмочевины (29 торговых наименований), ингибиторов дипептидилпептидазы-4 (8 торговых наименований). Распределение препаратов по стране-производителю выявило преобладание лекарственных препаратов отечественного производства (73.3 %). Проведение ценовой сегментации монокомпонентных ПССС показало преобладание препаратов низкого ценового сегмента.

Заключение. Изучение ассортимента ПССС в аптечных учреждениях Республики Крым позволило установить высокие показатели импортозамещения и значительную долю монокомпонентных ПССС низкого ценового сегмента, что делает изучаемую группу доступной для пациентов с сахарным диабетом 2-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, пероральные сахароснижающие средства, ценовая сегментация, коэффициент ликвидности.

Образец цитирования: Егорова Е.А., Шейхмамбетова Л.Н., Егорова С.Н., Бекирова Э.Ю. Анализ ценовых характеристик монокомпонентных пероральных сахароснижающих средств на фармацевтическом рынке Республики Крым // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):67–79. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-67-79

The analysis of price characteristics of monocomponent oral hypoglycemic drugs on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea

E.A. Egorova¹, L.N. Sheikhmambetova¹, S.N. Egorova², E.Yu. Bekirova²

¹Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

²Kazan State Medical University, Kazan, Russia

ABSTRACT

Introduction. Currently, diabetes mellitus is one of the commonest socially important diseases in the Republic of Crimea. In 2019 the incidence of diabetes mellitus in the population of the Republic amounted to 354.6 per 100 000 people, having outnumbered the figures of the previous year by more than 50%.

Поступила в редакцию 11.09.2021
Прошла рецензирование 12.10.2021
Принята к публикации 03.11.2021

Автор, ответственный за переписку

Егорова Елена Александровна: Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». 295051, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.
E-mail: elena212007@rambler.ru

Received 11.09.2021
Revised 12.10.2021
Accepted 03.11.2021

Corresponding author

Elena A. Egorova: Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University, 5/7, Lenina bulvar, Simferopol, Crimea, 295051, Russia.
E-mail: elena212007@rambler.ru

A i m . Price analysis of monocomponent oral hypoglycemic drug (OHGD) range offered on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The object of research conducted during the first half of 2021 was the range of monocomponent OHGDs offered in the pharmaceutical organizations on the territory of the Republic of Crimea. The source of information on the price of single medicinal products (MPs) administered for type 2 diabetes mellitus was the average retail prices of regional specialized pharmacy organizations – the Limited Liability Companies “Apteka Martana” and “Semeinaya Apteka.”

R e s u l t s . The OHGDs market of the Republic of Crimea is represented by 55 trade names of monocomponent MPs, among which the drugs of biguanide group (16 trade names), sulphonylurea derivatives (29 trade names), dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (8 trade names) predominate. The distribution of drugs by country of origin revealed the prevalence of medicinal products of domestic manufacture (73.3%). The price segmentation of monocomponent OHGDs demonstrated the prevalence of MPs of the low price segment.

C o n c l u s i o n . The study of monocomponent OHGD range in the pharmacies of the Republic of Crimea enabled to ascertain the high indices of import substitution and the considerable proportion of monocomponent OHDs of the low price segment, which makes the studied group accessible for the patients with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: diabetes mellitus, oral hypoglycemic drugs, price segmentation, liquidity ratio.

Citation example: Egorova E.A., Sheikhmambetova L.N., Egorova S.N., Bekirova E.Yu. The analysis of price characteristics of monocomponent oral hypoglycemic drugs in the pharmaceutical market of the Republic of Crimea. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):67–79. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-67-79

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в Республике Крым сахарный диабет является одним из наиболее распространенных социально-значимых заболеваний. Заболеваемость населения республики сахарным диабетом в 2019 г. составила 354.6 на 100 тыс. чел., превысив показатели предыдущего года более чем на 50 % [1]. При этом фактическая распространенность сахарного диабета, особенно 2-го типа, значительно выше, что может быть обусловлено латентным течением болезни и отсутствием со стороны пациента контроля уровня глюкозы и показателей гликированного гемоглобина [2, 3].

Важнейшей задачей лечения сахарного диабета является нормализация гликемии. Пероральные сахароснижающие средства (ПССС) широко применяются в терапии сахарного диабета, преимущественно 2-го типа [4]. Классификация ПССС включает в себя 9 фармакологических групп монокомпонентных препаратов: бигуаниды, производные сульфонилмочевины, гетероциклические производные сульфонилмочевины, ингибиторы альфа-глюкозидазы, тиазолидинедионы, ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), аналоги глюкагоноподобного пептида-1, ингибиторы натрийзависимого переносчика глюкозы 2-го типа и прочие гипогликемические препараты [5, 6].

Стоит отметить, что рынок ПССС представлен как монокомпонентными, так и комбинированными лекарственными препаратами (ЛП). Выбор препарата для конкретного пациента зависит от

INTRODUCTION

Currently, diabetes mellitus is one of the commonest socially important diseases in the Republic of Crimea. In 2019 the incidence of diabetes mellitus in the population of the Republic amounted to 354.6 per 100 000 people, exceeding the figures of the previous year by more than 50% [1]. Though the actual prevalence of diabetes mellitus, especially type 2, is significantly higher, due to latent symptoms and the lack of the patient's control of glucose and glycated hemoglobin level [2, 3].

The most important therapeutic task in diabetes mellitus is glycemia normalization. Oral hypoglycemic drugs (OHDs) are widely used in the therapy of diabetes mellitus, mainly type 2 [4]. The OHDs classification includes 9 pharmacological groups of monocomponent drugs: biguanides, sulphonylurea derivatives, heterocyclic sulphonylurea derivatives, alpha-glucosidase inhibitors, thiazolidinediones, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (DPP-4), glucagon-like peptide-1 analogues, sodium-dependent inhibitors of glucose transporter of type 2 and other hypoglycemic drugs [5, 6].

It is worth noting that OHGDs market is represented by both monocomponent and combination medicinal products (MPs). The choice of the drug for a particular patient depends on the current blood glucose and glycated hemoglobin levels, comorbid conditions and the presence of diabetes mellitus complications. The use of monocomponent drugs can be considered adequate if at the early stage of the disease you have a possibility to achieve the target glycemia values and control the pharma-

текущих показателей уровня глюкозы, гликозилированного гемоглобина, сопутствующих заболеваний и наличия осложнений сахарного диабета. Использование монокомпонентных препаратов можно считать адекватным при возможности достижения с их помощью целевых значений гликемии и контроля фармакологического воздействия на ранних стадиях развития заболевания. В случае невозможности осуществления жесткого контроля гликемии с целью профилактики микро- и макрососудистых осложнений пациенты могут нуждаться в назначении комбинированной фармакотерапии [7].

Задачами органов управления фармацевтической деятельностью в Республике Крым является обеспечение наличия на региональном рынке ПССС не только для лекарственного обеспечения медицинских организаций и населения региона, но и для лиц, страдающих сахарным диабетом, прибывающих в Республику Крым на курортно-оздоровительное лечение и отдых.

Широкий ассортимент ПССС, предназначенных для терапии сахарного диабета 2-го типа [8], большое количество международных непатентованных наименований (МНН) ПССС, значительные отличия в их стоимости обуславливают необходимость проведения ценового анализа, результаты которого необходимы для фармакоэкономического обоснования оптимальных схем лечения и формирования рационального ассортимента аптечных организаций.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ценовой анализ ассортимента монокомпонентных ПССС, представленных на фармацевтическом рынке Республики Крым.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования, проводившегося в 1-й половине 2021 г., являлся ассортимент монокомпонентных ПССС, представленный в аптечных организациях на территории Республики Крым. Выбор монокомпонентных препаратов с целью проведения анализа обусловлен трудностью учета всех возможных комбинаций ПССС, входящих в состав комбинированных лекарственных препаратов, и различными дозировками действующих веществ.

Источником информации о стоимости отдельных ЛП, применяющихся при сахарном диабете 2-го типа, стали средние значения розничных цен региональных специализированных аптечных организаций – обществ с ограниченной ответственностью «Аптека Мартана» и «Семейная аптека».

cological effect with their help. If it is impossible to exercise strict control of glycemia to prevent micro- and macrovascular complications, patients may require the combined pharmacotherapy administration [7].

The tasks of the pharmaceutical management bodies in the Republic of Crimea are to ensure the OHGDs availability on the regional market not only for drug supply to the health organizations and population of the region, but also for the individuals suffering from diabetes mellitus arriving in the Republic of Crimea for health resort treatment and recreation.

A wide range of OHGDs designed for type 2 diabetes mellitus therapy [8], a large number of international non-proprietary names (INN) of OHGDs, considerable differences in price, dictate the need for a price analysis, the results of which are essential for pharmacoeconomic justification of optimal treatment regimens and the formation of rational assortment of pharmacy organizations.

AIM OF THE RESEARCH

Price analysis of the range of monocomponent OHGDs offered on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea.

MATERIALS AND METHODS

The object of research conducted during the first half of 2021 was the monocomponent OHGDs range offered by the pharmacy organizations on the territory of the Republic of Crimea. The choice of monocomponent drugs for the purpose of analysis is due to the difficulty of the accounting of all possible OHGDs combinations that are part of combination drugs, and various dosage strength of active ingredients.

The source of information on the cost of individual MPs administered for type 2 diabetes mellitus was the average retail prices offered by regional specialized pharmacy organizations – Limited Liability Companies “Apteka Martana” and “Semeinaya Apteka.”

The cost of equivalent course dose (ECD) of MP was taken into account to carry out the price segmentation of monocomponent OHGDs market. The price segmentation was conducted by means of grouping terms based on the Sturges’ formula application [9]

$$N = 1 + 3.322 \lg n,$$

where N – number of OHGDs groups;
 n – number of units in total.

Для ценовой сегментации рынка монокомпонентных ПССС учитывали стоимость эквивалентной курсовой дозы (ЭКД) ЛП. Проведение ценовой сегментации осуществляли с использованием метода группировки, основанном на применении формулы Стёрджесса [9]

$$N = 1 + 3.322 \lg n,$$

где N – число групп ПССС;

n – количество единиц в совокупности.

Если вариация признака распределена равномерно и ценовой диапазон имеет узкий спектр, то для сегментации диапазона на низкую, среднюю и высокую границу сегмента стоимости одной ЭКД ЛП необходимо использовать группировку с равными интервалами. Величину такого интервала (h) определяют согласно формуле

$$h = \frac{Y_{\max} - Y_{\min}}{q},$$

где h – величина интервала;

Y_{\max} – максимальная цена одной ЭКД;

Y_{\min} – минимальная цена одной ЭКД;

q – количество групп ПССС.

Граница ценового диапазона рассчитывалась с помощью суммирования минимального значения цены одной ЭКД и величины интервала h [10].

Расчет затрат для лечения одного пациента определенным ЛП в течение года проводился путем нахождения стоимости ЭКД ($C_{1ЭКД}$). Курс лечения больных сахарным диабетом принято считать равным 365 дням (1 год), что обусловлено хроническим протеканием нозологии и необходимостью постоянного контроля уровня глюкозы в плазме крови пациента. С целью проведения расчета стоимости ЭКД определенного ПССС осуществляли расчет стоимости единицы действующего вещества ($C_{1ДВ}$) ЛП с дальнейшим умножением полученного результата на величину эффективной курсовой дозы. Источником информации о величине ЭКД являлся стандарт медицинской помощи взрослым пациентам при сахарном диабете, утвержденный приказом Минздрава России от 01.10.2020 № 1054н «Об утверждении стандартов медицинской помощи взрослым при сахарном диабете 2 типа» [11].

Расчет цены единицы действующего вещества, выраженной в миллиграммах каждого ЛП ($C_{1ДВ}$), осуществляли с помощью деления розничной цены упаковки ($C_{1ЛП}$) на количество действующих единиц ЛП, выраженных в миллиграммах, во всей упаковке ЛП по следующей формуле:

If indicator variation has a uniform distribution, and a price range is narrow, it is necessary to use grouping with equal intervals to segment the range into low, average and high segment boundary of a single ECD of MP. The range of such interval (h) is calculated according to the formula

$$h = \frac{Y_{\max} - Y_{\min}}{q},$$

where h – interval range;

Y_{\max} – maximum price of one ECD;

Y_{\min} – minimum price of one ECD;

q – number of OHGDs groups.

The price range boundary was calculated by summing the minimum value of the price of one ECD and the range of the interval h [10].

Costs for the treatment of one patient using a certain MP during a year were calculated by finding ECD value (C_{1ECD}). The course of treatment for patients with diabetes mellitus is considered to be equal to 365 days (1 year) that is due to chronicity of this nosology and the necessity of constant monitoring of the level of glucose in the patient's blood plasma. In order to calculate the cost of ECD of a specific OHGD, the cost of the active ingredient unit (P_{1AI}) of MP was calculated with further multiplication of the result obtained by the effective course dose value. The source of information on the ECD value was the standard of medical care for adults with diabetes mellitus, approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 1, 2020 No. 1054n "On Approval of the Standards of Medical Care for Adults with Type 2 Diabetes Mellitus" [11].

The calculation of the active ingredient unit price, expressed in milligrams of each MP (P_{1AI}) was performed by dividing the retail price of the package (P_{1MP}) by the amount of MP active ingredient units, expressed in milligrams, in entire MP package, according to the following formula:

$$P_{1AI} = \frac{P_{1MP}}{N_{AI}},$$

where P_{1AI} – MP active unit (mg) price;

P_{1MP} – MP package unit price;

N_{AI} – amount of active ingredient units (mg) in the package.

The calculation of the cost of the ECD required for further price segmentation of the range of individual OHGDs was carried out according to the following formula:

$$C_{1ECD} = P_{1AI} \cdot ECD,$$

where C_{1ECD} – the cost of one ECD of the MP;

ECD – MP equivalent course dose.

$$C_{\text{дв}} = \frac{C_{\text{лп}}}{N_{\text{дв}}},$$

где $C_{\text{дв}}$ – цена единицы действующего вещества (мг) ЛП;

$C_{\text{лп}}$ – цена единицы упаковки ЛП;

$N_{\text{дв}}$ – количество единиц действующего вещества (мг) в упаковке.

Расчет стоимости ЭКД, необходимой для дальнейшего проведения ценовой сегментации ассортимента отдельных ПССС, проводили по формуле

$$C_{\text{ЭКД}} = C_{\text{дв}} \cdot \text{ЭКД},$$

где $C_{\text{ЭКД}}$ – цена одной ЭКД ЛП;

ЭКД – эквивалентная курсовая доза ЛП.

Дополнительным этапом анализа стал расчет коэффициента ликвидности цены ЛП ($C_{\text{лиq}}$). Данный показатель показывает соотношение между максимальной и минимальной ценой конкретного ЛП в определенный период времени на фармацевтическом рынке региона, что отражает состояние конкуренции в сегменте ЛП. Расчет коэффициента ликвидности цены для отдельных МНН ПССС проводили по следующей формуле [12, 13]:

$$C_{\text{лиq}} = \frac{P_{i \max} - P_{i \min}}{P_{i \min}},$$

где $P_{i \max}$ – максимальная розничная цена i -го ЛП;

$P_{i \min}$ – минимальная розничная цена i -го ЛП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рынок ПССС Республики Крым представлен 55 наименованиями монокомпонентных ЛП. По количеству торговых наименований отдельных МНН большая доля рынка представлена ЛП, содержащими следующие фармацевтические субстанции: метформин, глимеперид, гликлазид и глибенкламид. Распределение ПССС на фармацевтическом рынке Республики Крым по фармакологическим группам представлено на рис. 1.

Среди основных групп препаратов стоит выделить группу бигуанидов (1 МНН – метформин, 16 торговых наименований), производных сульфонилмочевины (4 МНН: глимепирид (5 торговых наименований), гликлазид (17 торговых наименований), глибенкламид (6 торговых наименований), гликвидон (1 торговое наименование)), ингибиторов дипептидилпептидазы-4 (7 МНН (вилдаглиптин, алоглиптин, эвоглиптин, саксаглиптин, линаглиптин, ситаглиптин, гозоглиптин), 8 торговых наименова-

An additional stage of the analysis was the MP price liquidity ratio calculation ($P_{\text{лиq}}$). This index demonstrates the relation between maximum and minimum price of the particular MP during the certain period of time on the regional pharmaceutical market that reflects the state of market competition in the MP segment. The liquidity ratio of price for individual INNs of OHGDs was calculated according to the following formula [12, 13]:

$$P_{\text{лиq}} = \frac{P_{i \max} - P_{i \min}}{P_{i \min}},$$

where $P_{i \max}$ – maximum retail price of i^{th} MP;

$P_{i \min}$ – minimum retail price of i^{th} MP.

RESULTS AND DISCUSSION

The OHGDs market of the Republic of Crimea is represented by 55 names of monocomponent MPs. According to trade names of the individual INNs, a large share of the market is represented by MPs containing the following pharmaceutical substances: metformin, glimepiride, gliclazide, and glibenclamide. The distribution of OHGDs on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea by pharmacological groups is demonstrated in the Fig. 1.

Among the principal groups of drugs, it is worth highlighting the biguanides group (1 INN – metformin, 16 trade names), sulphonylurea derivatives (4 INN: glimepiride (5 trade names), gliclazide (17 trade names), glibenclamide (6 trade names), gliquidone (1 trade name)), dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (7 INN (vildagliptin, alogliptin, evogliptin, saxagliptin, linagliptin, sitagliptin, gozogliptin), 8 trade names), and the group of other oral hypoglycemic drugs (1 INN, 2 trade names).

The distribution of the presented OHGDs according to the manufacturer allowed to distinguish 2 groups: drugs produced domestically (73.3%), and drugs produced abroad (26.7%), which indicates high rates of import substitution and manufacturing of large amounts of OHGDs on the territory of the Russian Federation.

To carry out the price segmentation of the OHGD market, the price of an active ingredient unit (mg) of individual MPS and the cost of ECD, both expressed in rubles, were initially calculated (Table 1).

The calculation results allowed to determine that the cost of the ECD of the individual OHGDs ranges from 628.62 to 25 550.00 rubles.

The choice of INN OHGDs for price segmentation was due to the large amount of analogues of drugs



Рис. 1. Распределение фармакологических групп ПССС, представленных на фармацевтическом рынке Республики Крым, по количеству торговых наименований (ДПП-4 – дипептидилпептидаза-4; ПССС – пероральные сахароснижающие средства)

Fig. 1. Distribution of OHGDs pharmacological groups represented on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea according to the number of trade names (DPP-4 – dipeptidyl peptidase-4, OHGDs – oral hypoglycemic drugs)

ний) и группу прочих пероральных сахароснижающих средств (1 МНН, 2 торговых наименования).

Распределение представленных ПССС по производителю позволило выделить 2 группы: препараты отечественного производства (73.3 %) и зарубежного производства (26.7 %), что свидетельствует о высоких показателях импортозамещения и производстве больших объемов ПССС на территории Российской Федерации.

Для проведения ценовой сегментации рынка ПССС первоначально был проведен расчет цены единицы действующего вещества отдельных ЛП (мг) и расчет стоимости ЭКД, выраженных в рублях (табл. 1).

Результаты расчетов позволили определить, что стоимость ЭКД отдельных ПССС колеблется в пределах от 628.62 до 25 550.00 руб.

Выбор МНН ПССС для проведения ценовой сегментации был обусловлен большим количеством представленных на рынке аналогов препаратов метформин, глибенкламид, глимепирид, гликлазид и значительными отличиями в их стоимости, а также использованием представленных препаратов в качестве стартовой монокомпонентной терапии для больных сахарным диабетом. Целесообразно отметить, что большинство из изучаемых препаратов (метформин, глибенкламид, гликлазид) включены в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов [14].

presented in the market (metformin, glibenclamide, glimepiride, gliclazide) and significant differences in their cost, as well as the use of these drugs as a starting monocomponent therapy for the patients with diabetes mellitus. It is worth mentioning that the majority of drugs under study (metformin, glibenclamide, gliclazide) are included in the List of Vital and Essential Drugs [14].

Carrying out the price segmentation allowed to classify MPs in the market into low, average and high price segments, which is advisable to identify the availability of drugs for patients with diabetes mellitus. The results of calculations applying the Sturges' formula and the classification of price categories are presented in Table 2.

Carrying out the price segmentation for drugs containing metformin allowed to reveal the predominance of the low price segment drugs (68.75%, 11 trade names), 3 drug trade names were presented in the middle price range (18.75%), and 2 trade names – in the high one (12.5%). A similar ratio of price segments was observed in gliclazide, for which the segment ratio was 59:29:12%. For the drug glimepiride, the ratio of trade names of the low and high price segments was 4:1. Drugs of middle price segment were not presented on the market. Among the trade names of the drug glibenclamide there were MPs of all price categories in the same percentage ratio (33.3%).

The calculation of price liquidity ratio allowed determining the strongest competition among glimepiride drugs ($P_{liq} = 23.8$).

Таблица 1. Стоимость эквивалентной курсовой дозы ПССС, представленных в аптечных организациях Республики Крым
Table 1. The cost of the equivalent course dose of OHGDs presented in the pharmacy organizations of the Republic of Crimea

1	2	3	4	5	6	7
Наименование ЛП, лекарственная форма Medicinal product name, dosage form	Производитель (страна) Manufacturer (country)	Дозировка, мг Strength, mg	Количество таблеток в упаковке Number of tablets per package	Цена упа- ковки, руб. Package price, rub	С _{ЛП} , руб. P _{ЛП} , rubles	С _{ЭКД} , руб. С _{ЭКД} , rubles
Бигуаниды: метформин (ЭКД = 638 750 мг) / Biguanides: metformin (ECD = 638 750 mg)						
Мерифатин МВ, табл. пролонг. Merifatim MB, PR tab.	Фармасинтез-Тюмень, ООО (Россия) Pharmasyn-tez-Tyumen, LLC (Russia)	1000	60	172.00	0.003	1831.08
Метформин Санофи, табл. Metformin Sanofi, tab.	SANOFI (Италия / Italy)	500	60	100.00	0.003	2129.17
Глюкофаж лонг, табл. Glucophage Long, tab.	Merck Sante, s.a.s. (Франция), или MERCK, S.L. (Испания), или НАНОЛЕК, ООО (Россия) Merck Sante, s.a.s. (France), or MERCK, S.L. (Spain), or NANOLEK, LLC (Russia)	500	30	195.00	0.013	8303.75
Мерифатин, табл. Merifatim, tab.	Фармасинтез, АО (Россия) или Фармасинтез-Тюмень, ООО (Россия) Pharmasyn-tez, JSC (Russia) or Pharmasyn-tez-Tyumen, LLC (Russia)	500	60	100.00	0.003	2129.17
Метфорвел, табл. Metphorvel, tab.	Велфарм, ООО (Россия) Velpharm, LLC (Russia)	500	60	156.00	0.005	3321.50
Метформин-ВЕРТЕКС, табл. Metformin-VERTEKX, tab.	ВЕРТЕКС, АО (Россия) VERTEKS, JSC (Russia)	1000	60	165.00	0.003	1756.56
Метформин Лонг Канон, табл. пролонг. Metformin Long Canon, PR tab.	Канонфарма Продакшн, ЗАО (Россия) Canonpharma Production, CJSC (Russia)	1000	60	122.00	0.002	1298.79
Метформин Лонг, табл. пролонг. Metformin Long, PR tab.	Биосинтез, ПАО (Россия) Biosintez, PJSC (Russia)	500	60	345.00	0.012	7345.63
Метформин, табл. Metformin, tab.	ОЗОН, ООО (Россия) OZON, LLC (Russia)	1000	60	183.00	0.003	1948.19
Форметин Лонг, табл. пролонг. Formetin Long, PR tab.	Фармстандарт-Томскхимфарм, ОАО (Россия) PHS-Tomskhimpharm, JSC (Russia)	1000	30	354.00	0.012	7537.25
Форметин, табл. Formetin, tab.	Фармстандарт-Томскхимфарм, ОАО (Россия) PHS-Tomskhimpharm, JSC (Russia)	500	60	96.00	0.003	2044.00
Сиофор, табл. Siofor, tab.	Dragepharm Apotheke Puschl, GmbH (Германия), или Menarini-Von Heyden, GmbH (Германия), или BERLIN-CHEMIE, AG (Германия) Dragepharm Apotheke Puschl, GmbH (Germany), or Menarini-Von Heyden, GmbH (Germany), or BERLIN-CHEMIE, AG (Germany)	500	60	266.00	0.009	5663.58

Продолжение табл. 1 / Table 1 continuation

1	2	3	4	5	6	7
Метформин Канон, табл. Metformin Canon, tab.	Канонфарма Продакшн, ЗАО (Россия) Canonpharma Production, CJSC (Russia)	500	60	156.00	0.005	3321.50
Метформин Тева, табл. Metformin Teva, tab.	Teva Pharmaceutical Industries, Ltd. (Израиль) Teva Pharmaceutical Industries, Ltd. (Israel)	500	60	121.00	0.004	2576.29
Метформин, табл. Metformin, tab.	Химико-фармацевтический комбинат АКРИХИН, АО (Россия) АКРИХИН, JSC (Russia)	1000	60	523	0.009	5567.77
Метформин-Рихтер, табл. Metformin-Richter, tab.	ГЕДЕОН РИХТЕР-РУС, АО (Россия) GEDEON RICHTER-RUS, JSC (Russia)	500	60	200	0.007	4258.33
Производные сульфонилмочевины / Sulphonylurea derivatives						
<i>Глимепирид (ЭКД = 1460 мг) / Glimperide (ECD = 1460 mg)</i>						
Амарил, табл. Amaryl, tab.	SANOPI, S.p.A. (Италия) SANOPI, S.p.A. (Italy)	4	90	3550	9.861	14 397.22
Глимепирид, табл. Glimperide, tab.	ОЗОН, ООО (Россия) OZON, LLC (Russia) (Russia)	3	30	280	3.111	4542.22
Глимепирид Канон, табл. Glimperide Canon, tab.	Канонфарма Продакшн, ЗАО (Россия) Canonpharma Production, CJSC (Russia)	1	30	160	5.333	7786.67
Глимепирид, табл. Glimperide, tab.	Фармпроект, АО (Россия) Pharmproject, JSC (Russia)	4	30	143	1.192	1739.83
Диамерид, табл. Diamerid, tab.	Химико-фармацевтический комбинат АКРИХИН, АО (Россия) АКРИХИН, JSC (Russia)	2	30	162	2.700	3942.00
<i>Гликлазид (ЭКД = 32 850 мг) / Gliclazide (ECD = 32 850 mg)</i>						
Гликлазид Канон, табл. пролонг. Gliclazide Canon, PR tab.	Канонфарма Продакшн, ЗАО (Россия) Canonpharma Production, CJSC (Russia)	30	60	186	0.103	3394.50
Глидиаб, табл. Glydiab, tab.	Химико-фармацевтический комбинат АКРИХИН, АО (Россия) АКРИХИН, JSC (Russia)	80	60	145	0.030	992.34
Диабетон МВ, табл. модиф. Diabeton MR, MR tab.	СЕРВЬЕ РУС, ООО (Россия) или Les Laboratoires Servier Industrie (Франция) SERVIER RUS, LLC (Russia) or Les Laboratoires Servier Industrie (France)	60	28	250	0.149	4888.39
Гликлазид МВ, табл. модиф. Gliclazide MB, MR tab.	ОЗОН, ООО (Россия) OZON, LLC (Russia)	60	10	145	0.242	7938.75
Гликлазид МВ Фармстандарт, табл. пролонг. Gliclazide MR Pharmstandart, PR tab.	Фармстандарт-ТомскхимФарм, ОАО (Россия) PHS-Tomskhimpharm, JSC (Russia)	30	30	233	0.259	8504.50

Продолжение табл. 1 / Table 1 continuation

1	2	3	4	5	6	7
Голда МВ, табл. модиф. Golda MR, MR tab.	Фармасинтез, АО (Россия) или Фармасинтез-Тюмень, ООО (Россия) Pharmasyntez, JSC (Russia) or Pharmasyntez-Tyumen, LLC (Russia)	30	60	224	0.124	4088.00
Диабеталонг, табл. пролонг. Diabetalong, PR tab.	Синтез, ОАО (Россия) Sintez, OJSC (Russia)	30	60	166	0.092	3029.50
Глидиаб МВ, табл. модиф. Glydiab MR, MR tab.	Акрихин, ОАО (Россия) Akrikhin, OJSC (Russia)	30	10	124.27	0.414	13 607.57
Гликлада, табл. пролонг. Gliclada, PR tab.	КРКА, д.д., Ново место, АО (Словения) Krka, d.d., Novo mesto (Slovenia)	60	15	192.14	0.213	7013.11
Диабетон МВ, табл. модиф. Diabeton MR, MR tab.	Лаборатории Сервье (Франция) Les Laboratoires Servier (France)	60	15	205.83	0.229	7512.80
Диабеталонг, табл. пролонг. Diabetalong PR tab.	МС-Вита, ООО (Россия) MS-Vita, LLC (Russia)	30	10	132.51	0.442	14 509.85
Диабетафарм МВ, табл. модиф. Diabefarm MR, MR tab.	Фармакор Продакшн, ООО (Россия) Pharmacor Production, LLC (Russia)	30	10	100.13	0.334	10 964.24
Гликлазид МВ – ВЕРТЕКС, табл. пролонг. Gliclazide MV-Vertex, PR tab.	ВЕРТЕКС, АО (Россия) WERTEKS, JSC (Russia)	60	15	213.77	0.238	7802.61
Гликлазид, табл. модиф. Gliclazide, MR tab.	Усолье-Сибирский химфармацевт, АО (Россия) Usolye-Sibirskiy Chemical and Pharmaceutical Factory, JSC (Russia)	80	100	153	0.019	628.26
Гликлазид-СЗ, табл. пролонг. Gliclazide-SZ, PR tab.	Северная звезда, ЗАО (Россия) Severnaya Zvezda, CJSC (Russia)	60	30	575.7	0.320	10 506.53
Диабетафарм МВ, табл. модиф. Diabefarm MR, MR tab.	Фармакор Продакшн, ООО (Россия) Pharmacor Production, LLC (Russia)	60	10	360.21	0.600	19 721.50
Диабинакс, табл. Diabinax, tab.	Шрея Лайф Саенсиз Пвт.Лтд. (Индия) Shreya Life Sciences, Pvt. Ltd. (India)	20	10	120	0.600	19 710.00
Манинил, табл. Maninil, tab.	<i>Глибенкламид (ЭКД = 4380 мг) / Glibenclamide (ECD = 4380 mg)</i> Meparini-Von Heyden, GmbH (Германия) Meparini-Von Heyden, GmbH (Germany)	3-5	120	167	0.398	1741.57
Глибенкламид, табл. Glibenclamide, tab.	ОЗОН, ООО (Россия) OZON, LLC (Russia)	5	10	105	2.100	9198.00
Глибенкламид, табл. Glibenclamide, tab.	Фармстандарт-Лексредства, ОАО (Россия) PHS-Leksredstva, OJSC (Russia)	3-5	20	110.81	1.583	6933.54
Глибенкламид, табл. Glibenclamide, tab.	Озон, ООО (Россия) OZON, LLC (Russia)	5	10	108.25	2.165	9482.70
Глибенкламид, табл. Glibenclamide, tab.	Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко, ОАО (Россия) Moshimfarmpreparaty n.a. N.A. Semashko, OJSC (Russia)	5	10	44.38	0.888	3887.69
Глибенкламид, табл. Glibenclamide, tab.	Биосинтез, ОАО (Россия) Biosintez, OJSC (Russia)	5	10	48.65	0.973	4261.74

Окончание табл. 1 / Table 1 ending

1	2	3	4	5	6	7
Глюренорм, табл. Glucenorm, tab.	Гликвидон (ЭКД = 43 800 мг) / Glicvidone (ECD = 43 800 mg) BOEHRINGER INGELHEIM ELLAS, А.Е. (Греция / Greece)	30	60	480	0.267	11 680.00
Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 / Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors						
Виридия, табл. Viridia, tab.	Алоглиптин (ЭКД = 7300 мг) / Alogliptin (ECD = 7300 mg) TAKEDA IRELAND Limited (Ирландия / Ireland)	12.5	28	1170	3.343	24 402.86
Галвус, табл. Galvus, tab.	Вилдаглиптин (ЭКД = 32 850 мг) / Vildagliptin (ECD = 32 850 mg) Novartis Farmaceutica, S.A. (Испания) или Новартис Нева, ООО (Россия) Novartis Farmaceutica, S.A. (Spain) or Novartis Neva, LLC (Russia)	50	28	805	0.575	18 888.75
Кселевия, табл. Xelevia, tab.	Берлин-Фарма, ЗАО (Россия) Berlin-Pharma, CJSC (Russia)	100	28	1700	0.607	19 944.64
Эвюдин, табл. Evodin, tab.	Эвоглиптин (ЭКД = 1825 мг) / Evogliptin (ECD = 1825 mg) ГЕРОФАРМ (Россия) GEROPHARM (Russia)	5	28	938	6.700	12 227.50
Трајента, табл. Trajenta, tab.	Линаглиптин (ЭКД = 1825 мг) / Linagliptin (ECD = 1825 mg) West-Ward Columbus, Inc. (США / USA)	5	30	2100	14.000	25 550.00
Кселевия, табл. Xelevia, tab.	Ситаглиптин (ЭКД = 32 850 мг) / Sitagliptin (ECD = 32 850 mg) Берлин-Фарма, ЗАО (Россия) Berlin-Pharma, CJSC (Russia)	100	28	1700	0.607	19 944.64
Янувия, табл. Januvia, tab.	Мерк Шарп & Дохме, В.В. (Нидерланды / Netherlands) Гозоглиптин (ЭКД = 9125 мг) / Gosogliptin (ECD = 9125 mg) Фармасинтез-Тумень, ООО (Россия) Pharmasyntez-Tumen, LLC (Russia)	100	28	1850	0.661	21 704.46
Сатерекс, табл. Saterex, tab.	Прочие гипогликемические препараты / Other hypoglycemic drugs					
НовоНорм, табл. NovoNorm, tab.	Репалинд (ЭКД = 3285 мг) / Repaglinide (ECD = 3285 mg) Novo Nordisk A/S (Дания / Denmark)	1	30	165	5.500	18 067.50
Диалинид, табл. Diaglinate, tab.	Химико-фармацевтический комбинат АКРИХИН, АО (Россия) AKRIKHIN, JSC (Russia)	1	30	193	6.433	21 133.50

Примечания: 1. Полужирным выделены оригинальные препараты.

2. ЭКД – эквивалентная курсовая доза; табл. – таблетки; табл. пролонг. – таблетки с пролонгированным высвобождением; табл. модиф. – таблетки с модифицированным высвобождением.

Note: 1. Original drugs are highlighted in bold.

2. ECD – equivalent course dosage; tab. – tablets; PR tab. – prolonged release tablets; MR tab. – modified release tablets; LLC – Limited Liability Company; JSC – Joint-stock Company; CJSC – closed JSC; PJSC – public JSC; OJSC – open JSC.

Таблица 2. Ценовая сегментация и показатели коэффициента ликвидности основных ПССС, представленных на фармацевтическом рынке Республики Крым**Table 2.** Price segmentation and liquidity ratio indicators of the main OHGDs presented on the pharmaceutical market of the Republic of Crimea.

МНН INN	Сегмент стоимости Price segment	Диапазон сегмента стоимости ЭКД, руб. ECD cost segment range, rubles	Количество торговых наименований отдельных ЛП Number of trade names of individual MPs	Доля, % Proportion, %	Коэффициент ликвидности цены C_{liq} Price liquidity ratio C_{liq}
Метформин Metformin	Низкий / Low	1298.792–4101.67	11	68.75	4.44
	Средний / Average	4101.68–6904.55	3	18.75	
	Высокий / High	6904.56–8305.99	2	12.5	
	<i>Итого / Total</i>	–	16	100	
Глимепирид Glimepiride	Низкий / Low	1739.83–5576.56	4	80	23.8
	Средний / Average	5576.57–13 250.02	0	0	
	Высокий / High	13 250.03–17 086.75	1	20	
	<i>Итого / Total</i>	–	5	100	
Гликлазид Gliclazide	Низкий / Low	628.26–8118.74	10	59	4.74
	Средний / Average	8118.75–15 609.22	5	29	
	Высокий / High	15 609.23–23 099.7	2	12	
	<i>Итого / Total</i>	–	17	100	
Глибенкламид Glibenclamide	Низкий / Low	1741.57–3896.67	2	33.33	2.76
	Средний / Average	3896.68–8206.87	2	33.33	
	Высокий / High	8206.88–10 361.97	2	33.33	
	<i>Итого / Total</i>	–	6	100	

Примечание. МНН – международное непатентованное наименование, ЭКД – эффективная курсовая доза.
Note. INN – international proprietary name, ECD – equivalent course dose.

Проведение ценовой сегментации позволило распределить представленные на рынке ЛП на низкий, средний и высокий ценовые сегменты, что является целесообразным для выявления доступности препаратов для больных СД. Результаты расчетов с использованием формулы Стёрджесса и классификация ценовых категорий представлены в табл. 2.

Проведение ценовой сегментации для препаратов, содержащих метформин, позволило выявить преобладание препаратов низкого ценового сегмента (68.75 %, 11 торговых наименований), в среднем ценовом диапазоне были представлены 3 торговых наименования препарата (18.75 %) и в высоком – 2 торговых наименования ЛП (12.5 %). Подобное соотношение ценовых сегментов наблюдалось у препарата гликлазид, для которого соотношение сегментов составило 59:29:12 %. Для препарата глимепирид соотношение торговых наименований низкого и высокого ценовых сегментов составило 4:1. Препараты среднего ценового сегмента на рынке представлены не были. Среди торговых наименований препарата глибенкламид присутствовали ЛП всех ценовых категорий в одинаковом процентом соотношении (33.3 %).

Summarizing the above, it should be noted that the MPs of low price category dominate on the OHGDs pharmaceutical market of the Republic of Crimea. This fact may indicate their procurability both for healthcare institutions and for the individual suffering from type 2 diabetes mellitus.

CONCLUSION

The study of the range of OHGDs presented in the specialized pharmacy institutions – Limited Liability Companies “Apteka Martana” and “Semeinaya Apteka”, allowed to establish high rates of import substitution and a significant proportion of monocomponent OHGDs. In the pharmaceutical market of the Republic of Crimea, the OHGDs of low price segment are presented primarily, which makes these drugs accessible for patients with type 2 diabetes mellitus, due to the need of constant OHGD use, to normalize and control the level of glucose in the blood plasma, and prevent the development and progression of diabetic complications.

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

Расчет коэффициента ликвидности цены позволил определить, что наибольшая конкуренция наблюдается среди препаратов глимегирида ($C_{\text{лиқ}} = 23.8$).

Обобщая вышеперечисленное, следует отметить, что на фармацевтическом рынке ПССС Республики Крым преобладают ЛП низкой ценовой категории, что может свидетельствовать о финансовой доступности препаратов как для медицинских организаций, так и для граждан, страдающих сахарным диабетом 2-го типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение ассортимента ПССС, представленного в специализированных аптечных учрежде-

ниях – ООО «Аптека Маргана» и ООО «Семейная аптека», позволило установить высокие показатели импортозамещения и значительную долю монокомпонентных ПССС. На фармацевтическом рынке Республики Крым преимущественно представлены ПССС низкого ценового сегмента, что делает доступным применение этих препаратов для пациентов с СД 2-го типа ввиду необходимости постоянного применения ПССС с целью нормализации и контроля уровня глюкозы в плазме крови пациентов для профилактики развития и прогрессирования диабетических осложнений.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Заболеваемость населения Республики Крым социально-значимыми болезнями за 2014–2019 гг. (данные Министерства здравоохранения Республики Крым). URL: <https://crimea.gks.ru/storage/mediabank/RzcHJhVM/Социально-значимые%20болезни%202014-2019.pdf> (дата обращения: 09.12.2021).
2. Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Дедов И.И. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? // *Терапевт. арх.* 2019;91(10):4–13. doi: 10.26442/00403660.2019.10.00364.
3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // *Сахарный диабет.* 2016;19(2):104–112. doi: 10.14341/DM2004116-17.
4. Risk of hypoglycaemia in types 1 and 2 diabetes: effects of treatment modalities and their duration. U.K. Hypoglycaemia Study Group // *Diabetologia.* 2007;50:1140–1147. doi: 1007/500125-007-0599-y.
5. Анатомо-Терапевтически-Химическая (АТХ) система классификации (АТС). URL: <https://www.vidal.ru/drugs/atc> (дата обращения: 09.12.2021).
6. Ambrosio G., De Ferrari G.M., Federici M., Filardi P.P. Safety and tolerability of oral hypoglycemic therapies in type 2 diabetes mellitus patients at high cardiovascular risk // *G. Ital. Cardiol. (Rome).* 2017;18(6):485–495. doi: 10.1714/2700.27609. (In Italian)
7. Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я., Трубицына Н.П., Шестакова М.В. Особенности сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом и хронической болезнью почек // *Сахарный диабет.* 2013;3:97–102. doi: 10.14341/2072-0351-823.
8. Шейхмамбетова Л.Н., Егорова С.Н., Егорова Е.А., Бекирова Э.Ю. Рынок пероральных сахароснижающих препаратов в Республике Крым // *Вестн. совр. клин. медицины.* 2021;14(4):35–41. doi: 10.20969/VSKM.2021.14(4).35-41.
9. Булетова Н.Е., Кузибецкая Г.В., Демичева Е.В., Злочевский И.А., Демянчук С.Н. Статистические методы исследования макроэкономических яв-

REFERENCES

1. The incidence of socially significant diseases in the population of the Republic of Crimea in 2014–2019 (Data of Ministry of Health of the Republic of Crimea) URL: <https://crimea.gks.ru/storage/mediabank/RzcHJhVM/Социально-значимые%20болезни%202014-2019.pdf> (accessed 09.12.2021).
2. Shestakova M.V., Vikulova O.K., Zheleznyakova A.V., Isakova M.A., Dedov I.I. Diabetes epidemiology in Russia: what changed over the decade? *Therapeutic Arch.* 2019;91(10):4–13. doi: 10.26442/00403660.2019.10.00364. (In Russ.)
3. Dedov I.I., Shestakova M.V., Galstyan G.R. The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study). *Diabetes Mellitus.* 2016;19(2):104–112. doi: 10.14341/DM2004116-17.
4. Risk of hypoglycaemia in types 1 and 2 diabetes: effects of treatment modalities and their duration. U.K. Hypoglycaemia Study Group. *Diabetologia.* 2007;50:1140–1147. doi: 1007/500125-007-0599-y.
5. Anatomical Therapeutic Chemical Classification System (ATC) URL: <https://www.vidal.ru/drugs/atc> (accessed 09.12.2021).
6. Ambrosio G., De Ferrari G.M., Federici M., Filardi P.P. Safety and tolerability of oral hypoglycemic therapies in type 2 diabetes mellitus patients at high cardiovascular risk. *G. Ital. Cardiol. (Rome).* 2017;18(6):485–495. doi: 10.1714/2700.27609. (In Italian)
7. Shamkhalova M.Sh., Yarek-Martynova I.Y., Trubitsina N.P., Shestakova M.V. Glucose-lowering therapies in patients with diabetes mellitus and chronic kidney disease. *Diabetes Mellitus.* 2013;3:97–102. doi: 10.14341/2072-0351-823. (In Russ.)
8. Sheikhmambetova L.N., Egorova S.N., Egorova E.A., Bekirova E.Yu. Market of oral antidiabetic drugs in the Republic of Crimea. *Bull. of Contemporary Clin. Medicine.* 2021;14(4):35–41. doi: 10.20969/VSKM.2021.14(4).35-41. (In Russ.)
9. Buletova N.E., Kuzibetskaya G.V., Demicheva E.V., Zlochevskiy I.A., Demanchuk S.N. (2014). *Research Statistical Methods of Macroeconomic Events: Tutorial.* Volgograd. 320 p. (In Russ.)
10. Berezhnaya L.I., Koladov L.V., Tarasenko P.F. (2014). *Systematization and Analysis of Statistical Informa-*

- ний и процессов: учеб. пособие. Волгоград: Изд-во Волгоградск. ф-ла ФГБОУ ВПО РАНХиГС, 2014. 320 с.
10. Бережная Л.И., Колядов Л.В., Тарасенко П.Ф. Систематизация и анализ статистической информации с помощью аналитической группировки. Использование показателей вариации в анализе взаимосвязей признаков социально-экономических явлений: учеб. пособие. М.: Изд-во «Нефть и газ» РГУ нефти и газа имени И.М. Губкина, 2014. 30 с.
 11. Об утверждении стандартов медицинской помощи взрослым при сахарном диабете 2 типа: Приказ Минздрава России от 01.10.2020 № 1054н. URL: <http://docs.cntd.ru/document/566006443> (дата обращения: 09.12.2021).
 12. Котвицкая А.А., Лобова И.А. Анализ ценовых характеристик лекарственных препаратов нейропротекторного действия, представленных на фармацевтическом рынке Украины // Науч. ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2013;11(154):32–38.
 13. Чупандина Е.Е., Куролап М.С. Анализ экономической доступности лекарственных препаратов для лечения глаукомы на фармацевтическом рынке Воронежской области // Науч. ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2012;10(129):191–196.
 14. Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2020 год: Распоряжение Правительства РФ от 12.10.2019 № 2406-р. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=376891> (дата обращения: 09.12.2021).
- tion by Means of Analytical Grouping. Application of Variation Indices in the Analysis of Relationships Socioeconomical Event Signs: Tutorial. Moscow. 30 p. (In Russ.)*
11. On approval of standards of medical care for adults with type 2 diabetes mellitus: Order of the Ministry of Health of Russia dated October 1, 2020 No. 1054n. URL: <http://docs.cntd.ru/document/566006443> (accessed 09.12.2021).
 12. Kotovitskaya A.A., Lobova I.A. Analysis price characteristics of neuroprotective action drugs presented in the pharmaceutical market of Ukraine. *Belgorod State University Scientific Bull. Medicine. Pharmacy.* 2013;11(154):32–38. (In Russ.)
 13. Chupandina E.E., Kurolap M.S. Analysis of economic affordability of medicines for treatment of glaucoma in the pharmaceutical market in Voronezh Region. *Belgorod State University Scientific Bull. Medicine. Pharmacy.* 2012;10(129):191–196. (In Russ.)
 14. On approval of the List of Vital and Essential Drugs in 2020: Government of the Russian Federation Executive Order dated October 12, 2019 No. 2406-r. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=376891> (accessed 09.12.2021).

ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Egorova – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Basic and Clinical Pharmacology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia. ORCID: 0000-0003-4012-2523.

Lilya N. Sheikhmambetova – Assistant, Department of Pharmacy, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia. ORCID: 0000-0002-4481-2225.

Svetlana N. Egorova – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Deputy Director of Training and Education, Institute of Pharmacy, Kazan State Medical University, Kazan, Russia. ORCID: 0000-0001-7671-3179.

Elvira Yu. Bekirova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia. ORCID: 0000-0003-4097-2376.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Егорова Елена Александровна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры базисной и клинической фармакологии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». ORCID: 0000-0003-4012-2523.

Шейхмамбетова Лиля Наримановна – ассистент кафедры фармации Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». ORCID: 0000-0002-4481-2225.

Егорова Светлана Николаевна – д-р фармацевт. наук, профессор, заместитель директора по образовательной деятельности Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0001-7671-3179.

Бекирова Эльвира Юсуфовна – канд. мед. наук, доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». ORCID: 0000-0003-4097-2376.

Тканевый и ультраструктурный анализ печени крыс препубертатного возраста при субтоксическом воздействии кадмия и свинца

П.А. Елясин, С.В. Залавина, А.Н. Машак, Ю.Р. Равилова, С.В. Машак, С.В. Айдагулова

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

С помощью световой и электронной микроскопии изучено влияние интоксикации сульфатом кадмия (Cd) и ацетатом свинца (Pb) в течение 3 нед на архитектуру паренхимы печени и ультраструктурные особенности гепатоцитов 40 крысят-самцов Вистар препубертатного возраста с учетом модели классической печеночной дольки. Животные были разделены на 4 группы: 1-я – контроль; 2-я – раствор сульфата кадмия в дозе 0.5 мг/кг; 3-я – раствор ацетата свинца 10 мг/кг; 4-я – сочетание указанных растворов. По данным стереологического анализа полутонких срезов статистически значимые показатели перипортальных зон отражают увеличение объема гепатоцитов при воздействии Cd (2-я и 4-я группы). Во всех группах, за исключением 3-й (Pb), выявлено увеличение паренхиматозного компартмента в порто-венулярном градиенте, свидетельствующее о формировании «баллонной» дистрофии. Во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной дольки характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности эндоплазматической сети; для центролобулярной зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов. Формирование аутофагосом с признаками утилизации преимущественно митохондрий обращало на себя внимание в группах с воздействием Pb. Патологические изменения компенсированы усилением транссинусоидального обмена и наличием комплексов органелл биосинтеза.

Ключевые слова: печень, тяжелые металлы, крысы препубертатного возраста, тканевый анализ, ультраструктура, морфометрия.

Образец цитирования: Елясин П.А., Залавина С.В., Машак А.Н., Равилова Ю.Р., Машак С.В., Айдагулова С.В. Тканевый и ультраструктурный анализ печени крыс препубертатного возраста при субтоксическом воздействии кадмия и свинца // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):80–92. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-80-92

Tissue and ultrastructural analysis of the liver of prepubertal rats under subtoxic exposure to cadmium and lead

P.A. Elyasin, S.V. Zalavina, A.N. Mashak, Yu.R. Ravilova, S.V. Mashak, S.V. Aidagulova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Using light and electron microscopy, the effect of intoxication with cadmium sulfate (Cd) and lead acetate (Pb) for 3 weeks on the architectonics of the liver parenchyma and ultrastructural features of hepatocytes of 40 prepubertal male Wistar rats was studied, taking into account the model of the classical hepatic lobule. Animals were divided into 4 groups: 1st – control; 2nd – cadmium sulfate solution at a dose of 0.5 mg/kg; 3rd – lead acetate solution 10 mg/kg; 4th – a combination of these solutions. According to stereological analysis of semi-thin sections, statistically significant indicators of periportal zones

Поступила в редакцию 15.09.2021
Прошла рецензирование 21.09.2021
Принята к публикации 15.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Елясин Павел Александрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: elyasin@ngs.ru

Received 15.09.2021
Revised 21.09.2021
Accepted 15.10.2021

Corresponding author
Pavel A. Elyasin: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: elyasin@ngs.ru

reflect an increase in the volume of hepatocytes when exposed to Cd (2nd and 4th groups). In all groups, with the exception of the 3rd one (Pb), an increase in the parenchymal compartment in the porto-central gradient was revealed, indicating the formation of hepatocellular ballooning. In all experimental groups, for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a statistically significant decrease in the volumetric density of the endoplasmic reticulum; for the centrilobular zone – of mitochondria; for the perivenular zone – mitochondria and nuclei of hepatocytes. The formation of autophagosomes with signs of predominantly mitochondrial utilization attracted attention in groups exposed to Pb. Pathological changes are compensated by increased transsinusoidal metabolism and complexes of biosynthesis organelles.

Keywords: liver, heavy metals, prepubertal rats, tissue analysis, ultrastructure, morphometry.

Citation example: Elyasin P.A., Zalavina S.V., Mashak A.N., Ravilova Yu.R., Mashak S.V., Aidagulova S.V. Tissue and ultrastructural analysis of the liver of prepubertal rats under subtoxic exposure to cadmium and lead. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):80–92. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-80-92

ВВЕДЕНИЕ

В результате современной индустриализации металлы кадмий (Cd) и свинец (Pb), не участвующие в нормальном метаболизме человека, все шире распространяются в экосистемах, что приводит к их биоаккумуляции и возрастающему токсическому воздействию с формированием ряда патологий [1–3]. Содержание Cd в связи с промышленной и сельскохозяйственной деятельностью человека неуклонно повышается в воде и воздухе, а также в растениях и животных. Кроме того, Cd, имея очень низкий показатель полувыведения (25–30 лет), поступает в легкие человека при активном и пассивном курении, способствуя развитию многих заболеваний, в том числе опухолевых [4, 5]. Таким же опасным загрязнителем окружающей среды является Pb, попадающий в организм через дыхательную и пищеварительную системы, а также через кожу и оказывающий сильное токсическое воздействие на человека с развитием патологии нервной, респираторной и других систем [3]. Независимо от пути инкорпорации, оба токсиканта оказывают негативное воздействие на печень, которая играет ведущую роль в метаболизме ксенобиотиков [4].

Среди механизмов и структурных проявлений любого токсического воздействия на органы и ткани большую роль играет внутриклеточная аутофагия с помощью лизосом [6], являющаяся в норме высококонсервативным процессом утилизации митохондрий и последовательной деградации включений до аминокислот, глюкозы и свободных жирных кислот в качестве источников энергии и функций биосинтеза. В гепатоцитах аутофагия участвует в основных гомеостатических функциях (глюконеогенезе, гликогенолизе, окислении жирных кислот). Наряду с этим аутофагия связана с патогенезом ряда заболеваний: неалко-

INTRODUCTION

As a result of modern industrialization, cadmium (Cd) and lead (Pb) metals, which are not involved in normal human metabolism, are widely distributed in ecosystems, which leads to their bioaccumulation and increasing toxic effects with the formation of a number of pathologies [1–3]. The content of Cd in view of industrial and agricultural activities of man is steadily increasing in water and air, as well as in plants and animals. In addition, Cd having a very low half-life rates (25–30 years) enters the human lungs during active and passive smoking, contributing to the development of many diseases, including tumors [4, 5]. The same dangerous environmental pollutant is Pb, which enters the body through the respiratory and digestive systems, as well as through the skin and has a strong toxic effect on humans with the development of pathology of the nervous, respiratory and other systems [3]. Regardless of the route of incorporation, both toxicants have a negative effect on the liver, which plays a leading role in the metabolism of xenobiotics [4].

Among the mechanisms and structural manifestations of any toxic effect on organs and tissues, an important role is played by intracellular autophagy with the help of lysosomes [6], which is normally a highly conserved process of mitochondrial utilization and sequential degradation of inclusions to amino acids, glucose, and free fatty acids as energy sources and biosynthesis functions. In hepatocytes, autophagy is involved in major homeostatic functions (gluconeogenesis, glycogenolysis, fatty acid oxidation). Along with this, autophagy is associated with the pathogenesis of a number of diseases: non-alcoholic steatohepatitis, storage diseases, and toxic, including drug-induced, liver lesions, studied in the clinic and experiment, mainly in adults [7, 8]. The toxic

гольным стеатогепатитом, болезнями накопления и токсическими, в том числе лекарственными, поражениями печени, исследованными в клинике и эксперименте преимущественно у взрослых [7, 8]. Токсическое влияние тяжелых металлов на печень у детей требует более пристального внимания, поскольку имеет не только медицинское, но и социальное значение.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния хронической интоксикации сульфатом кадмия и ацетатом свинца на архитектонику паренхимы печени и ультраструктурные особенности гепатоцитов крыс препубертатного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Крысята-самцы Вистар препубертатного возраста (adolescents, 4 нед) массой тела 80–85 г были разделены на 4 группы по 10 животных в соответствии с дизайном эксперимента. Контрольная (1-я) группа имела доступ к корму и воде *ad libitum*; опытные группы в дополнение к этому *per os* в течение 21 сут получали либо раствор сульфата кадмия в дозе 0.5 мг/кг (2-я группа), либо ацетата свинца в дозе 10 мг/кг (3-я группа), либо сочетание указанных растворов (4-я группа). Животных в возрасте 7 нед выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Все животные находились в стандартных условиях вивария в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями (утверждены постановлением главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 51 от 29.08.2014). Уход и содержание, а также выведение животных из эксперимента осуществлялись согласно Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (ЕЭС, Страсбург, 1985); Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ЕЭС, Страсбург, 1986); Руководствам по проведению медико-биологических исследований и по содержанию и использованию лабораторных животных, в соответствии со стандартами, описанными в директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также правилами, утвержденными приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

effects of heavy metals on the liver in children require closer attention, since they have not only medical, but also social significance.

AIM OF THE RESEARCH

Studying of the effect of chronic intoxication with cadmium sulfate and lead acetate on the architectonics of the liver parenchyma and ultrastructural features of hepatocytes in prepubertal rats.

MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rat pups (4 weeks adolescents) weighing 80–85 g were divided into 4 groups of 10 animals in accordance with the design of the experiment. The control (1st) group had access to food and water *ad libitum*; experimental groups in addition to this for 21 days received *per os* either a solution of cadmium sulfate at a dose of 0.5 mg/kg (2nd group), or lead acetate at a dose of 10 mg/kg (3rd group), or a combination of these solutions (4th group). Animals at the age of 7 weeks were taken out of the experiment by decapitation under ether anesthesia. All animals were kept under standard vivarium conditions in accordance with the sanitary and epidemiological requirements (approved by the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation No. 51 dated August 29, 2014). The care and maintenance, as well as the withdrawal of animals from the experiment, were carried out in accordance with the International Guidelines for Biomedical Research Using Animals (EEC, Strasbourg, 1985); European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or other Scientific Purposes (EEC, Strasbourg, 1986); Guidelines for the conduct of biomedical research and for the care and use of laboratory animals, in accordance with the standards described in Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, and also the rules approved by the order of the Ministry of Health of Russia No. 199n of April 1, 2016 “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice.”

Samples of the right hepatic lobe were fixed for 24 h in a 4% paraformaldehyde solution cooled to 4°C, prepared in Millonig’s phosphate buffer (pH 7.3). For electron microscopy, the tissue was additionally fixed in a 1% OsO₄ solution, dehydrated in increasing concentrations of alcohols and acetone, and poured into a mixture of epoxy resins; the blocks were polymerized in a thermostat at 60°C for 24 h. Semi-thin (1 μm) and ultrathin (30–50 nm) sections were obtained on an LKB III ultramicrotome. Semi-

Образцы большой доли печени фиксировали в течение суток в охлажденном до 4 °С 4% растворе параформальдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7.3). Для электронно-микроскопической проводки ткань дофиксировали в 1% растворе OsO₄, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в смесь эпоксидных смол; блоки полимеризовали в термостате при 60 °С в течение 24 ч. Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие (30–50 нм) срезы получали на ультрамикротоме LKB III. Полутонкие срезы монтировали на обезжиренные предметные стекла и окрашивали на гистологическом столике (37 °С) в капле 1% раствора толуидинового синего, изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (C. Zeiss) с учетом представления о классической дольке печени, выделяя перипортальную, центролобулярную и перивенулярную зоны. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия по Рейнольдсу и исследовали в электронных микроскопах JEM-100 S и JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 60 и 80 кВт соответственно.

Для стереологического изучения образцов печени использовали методы, основанные на подсчете числа точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры. Тканевый анализ с изучением структурной плотности гепатоцитов и синусоидов в порто-венулярном градиенте печеночной дольки проводили на полутонких срезах, оценивая по 5–7 неперекрываемых полей зрения в каждом случае, по 50 на группу, при увеличении 630 с помощью тестовой системы коротких отрезков ($n = 36$, $P = 72$, $L = 190$ мкм). Ультраструктурный стереологический анализ (по 50 электронограмм перипортальных, центролобулярных и перивенулярных гепатоцитов соответственно на каждую группу, начальное увеличение от 4 до 8 тыс.) осуществляли при конечном увеличении в 22×10^3 раза с помощью программы Image J 1.7.

Статистический анализ полученных данных выполняли при помощи программных пакетов Excel MS Office-2016 и SPSS 22.0. Полученные выборки проверяли на нормальность распределения с помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения признака данные представлены как среднее (M) и среднеквадратическое отклонение (SD); сравнения производили с использованием *t*-критерия Стьюдента для непарных выборок. В случае ненормального распределения

thin sections were mounted on defatted glass slides and stained on a histological table (37°C) in a drop of 1% toluidine blue solution, studied using an Axio Scope.A1 microscope (C. Zeiss), taking into account the concept of a classical liver lobule, highlighting the periportal, centrilobular and the perivenular zone. Ultrathin sections were counterstained with a saturated alcohol solution of uranyl acetate and lead citrate in sodium alkali vapor according to Reynolds and examined under JEM-100 S and JEM-1400 electron microscopes (Japan) at an accelerating voltage of 60 and 80 kV respectively.

For the stereological study of liver samples, methods based on counting the number of points of the test system that hit the profile of the structure under study, were used. Tissue analysis with the study of the structural density of hepatocytes and sinusoids in the porto-central gradient of the hepatic lobule was performed on semi-thin sections, assessing 5–7 non-overlapping visual fields in each case, 50 per group, at a magnification of 630 using a test system of short segments ($n = 36$, $P = 72$, $L = 190 \mu\text{m}$). Ultrastructural stereological analysis (50 electron diffraction patterns of periportal, centrilobular, and perivenular hepatocytes respectively for each group, initial magnification from 4000 to 8000) was performed at a final magnification of 22×10^3 using Image J 1.7 software.

Statistical analysis of the obtained data was performed using the Excel MS Office-2016 and SPSS 22.0 software packages. The resulting samples were tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests. In the case of a normal distribution of the trait, the data are presented as the mean (M) and standard deviation (SD); comparisons were made using Student's *t*-test for unpaired samples. In the case of an abnormal sample distribution, the Mann-Whitney *U*-test with the Bonferroni correction was used. Descriptive data for quantitative traits are presented as a median (Me), interquartile interval (Q1; Q3 – 25th, 75th percentile), minimum (Min) and maximum (Max) indicators in the sample. The critical significance level of differences was 0.05 [9, 10].

RESULTS AND DISCUSSION

In the light microscopy of semi-thin sections of the liver of experimental animals, in the experimental groups, compared with the control group, changes in the tinctorial properties of hepatocytes and minor hemodynamic disturbances were revealed. In the control group, hepatocytes are moderately polymorphic, represented by “dark” and “light” cells, while “light” cells predominated perivenularly. Under

выборки использовали *U*-критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Описательные данные для количественных признаков представлены в виде медианы (Me), межквартирного интервала (Q1; Q3 – 25-й; 75-й перцентили), минимального (Min) и максимального (Max) показателей в выборке. Критический уровень значимости различий составил 0.05 [9, 10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При светооптическом исследовании полутонких срезов печени экспериментальных животных в опытных группах, по сравнению с контрольной, выявлены изменения тинкториальных свойств гепатоцитов и незначительные нарушения гемодинамики. В контрольной группе гепатоциты умеренно полиморфны, представлены «темными» и «светлыми» клетками, при этом перивенулярно преобладали «светлые» клетки. При моновоздействии Cd (2-я группа) обращали на себя внимание перипортальная клеточная инфильтрация, полнокровие и стаз эритроцитов в артериях портальных трактов и центральных венах; при моновоздействии Pb (3-я группа) перипортальные и централобулярные гепатоциты инфильтрированы мелкими плотными липидными включениями; в 4-й группе (сочетанное токсическое воздействие) сравнительно менее выраженная липидная дистрофия гепатоцитов сопровождалась атрофией паренхиматозных клеток печени и усилением клеточной инфильтрации (рис. 1).

По данным стереологического исследования печени с учетом представления о классической печеночной дольке (табл. 1) воздействие Cd привело к статистически значимому увеличению объемной плотности гепатоцитов всех зон: перипортальной ($p = 0.001$), централобулярной ($p = 0.001$) и с наибольшими показателями – перивенулярной ($p = 0.002$) зоны. Это сопровождалось неравномерным расширением просветов синусоидных капилляров в перипортальной ($p = 0.0001$) и перивенулярной ($p = 0.0001$) зонах.

При хроническом моновоздействии Pb статистически значимо возросла объемная плотность гепатоцитов только централобулярной зоны ($p = 0.001$), но изменения параметров микрососудистого русла долек были аналогичны изменениям 2-й группы – показатели возросли в перипортальной ($p = 0.002$) и перивенулярной ($p = 0.0001$) зонах.

При сочетанном воздействии (4-я группа) статистически значимо увеличена объемная плотность гепатоцитов перипортальной ($p = 0.003$) и

exposure to Cd alone (2nd group), attention was drawn to periportal cellular infiltration, plethora and stasis of erythrocytes in the arteries of the portal tracts and central veins; under exposure to Pb alone (3rd group), periportal and centrilobular hepatocytes were infiltrated with small dense lipid inclusions; in the 4th group (combined toxic effects), a relatively less pronounced lipid degeneration of hepatocytes was accompanied by atrophy of parenchymal liver cells and increased cell infiltration (Fig. 1).

According to the stereological study of the liver, taking into account the concept of a classical hepatic lobule (Table 1), exposure to Cd led to a statistically significant increase in the volumetric density of hepatocytes in all zones: periportal ($p = 0.001$), centrilobular ($p = 0.001$), and, with the highest indicators, perivenular ($p = 0.002$) zones. This was accompanied by uneven expansion of the lumen of the sinusoidal capillaries in the periportal ($p = 0.0001$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones.

In chronic exposure to Pb alone, the volumetric density of hepatocytes only in the centrilobular zone increased statistically significantly ($p = 0.001$), but the changes in the parameters of the microvascular bed of the lobules were similar to those in the 2nd group: the indicators increased in the periportal ($p = 0.002$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones.

In combined exposure (4th group), the volumetric density of hepatocytes in the periportal ($p = 0.003$) and perivenular ($p = 0.0001$) zones of the hepatic lobule is significantly increased, but the index of centrilobular hepatocytes decreased ($p = 0.045$). Luminal narrowing of the sinusoidal capillaries in the periportal zone ($p = 0.0001$) and ectasia in the centrilobular zone ($p = 0.021$) were noted.

In general, the volumetric density of sinusoids in the control and experimental groups increased in the porto-central gradient of the hepatic lobule, the only exception was the 4th group with combined toxic effects. Statistically significant indicators of the parenchymal compartment of the periportal zones of the hepatic lobules reflect an increase in the volume of hepatocytes in Cd exposure both in the 2nd and 4th groups. When comparing groups, no clear dynamics was noted for the centrilobular and perivenular zones. At the same time, in all groups, with the exception of the 3rd one, the indices of hepatocytes in the centrilobular zone exceeded those in the periportal zone; and in the perivenular zone – the indices of each of the previously mentioned zones, which may indicate increasing intracellular edema.

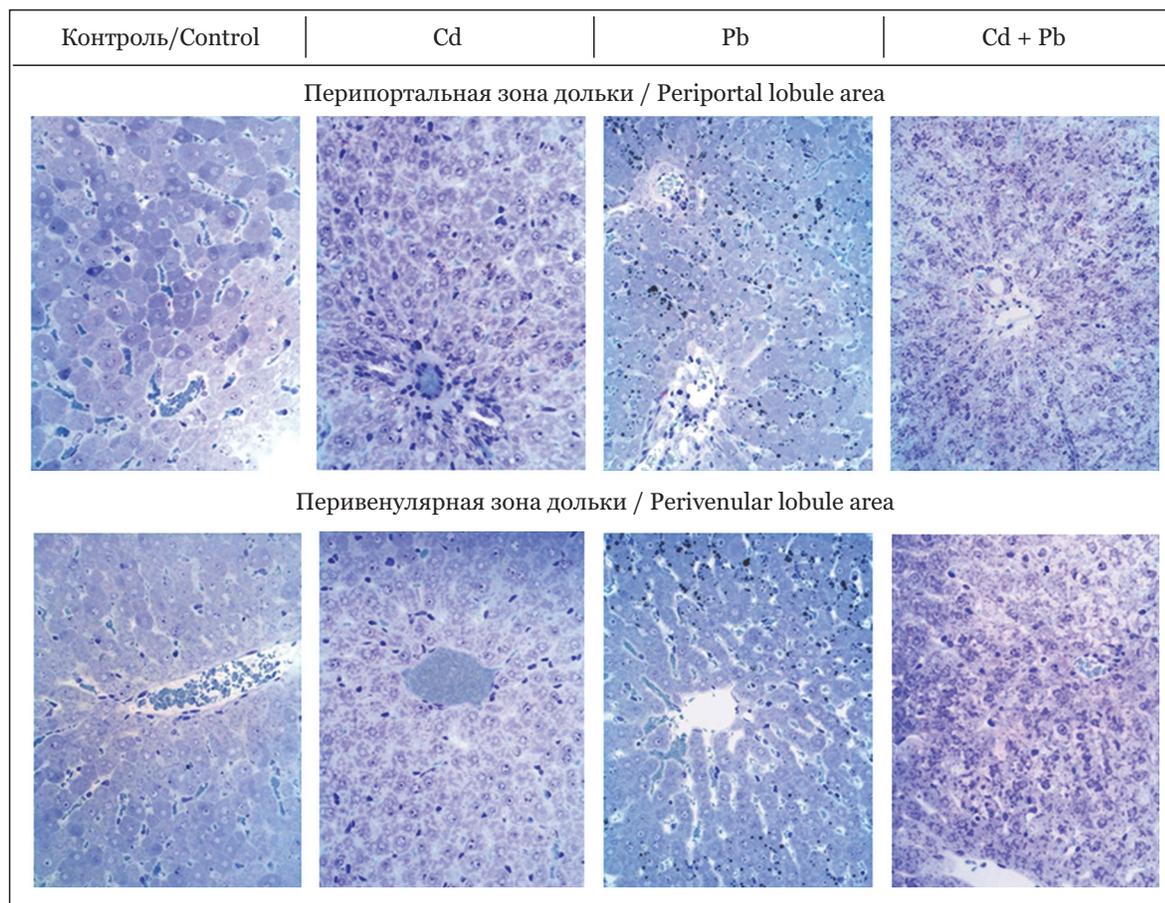


Рис. 1. Светооптическое исследование печени крысят-самцов Вистар после хронического моно- или сочетанного воздействия субтоксических доз Cd и Pb. Полутолстые срезы, окраска толуидиновым синим. Увеличение (ув.) $\times 630$
Fig. 1. Light microscopy of the liver of male Wistar rat adolescents after chronic single or combined exposure to subtoxic doses of Cd and Pb. Semi-thin sections, stained with toluidine blue. Magnification (magn.) $\times 630$

перивенулярной ($p = 0.0001$) зон печеночной дольки, однако показатель центрлобулярных гепатоцитов уменьшился ($p = 0.045$). Отмечены сужение просветов синусоидных капилляров перипортальной зоны ($p = 0.0001$) и расширение – центрлобулярной ($p = 0.021$).

В целом объемная плотность синусоидов в контрольной и опытных группах нарастала в порто-центральной градиенте печеночной дольки, исключение составила лишь 4-я группа с сочетанным токсическим воздействием. Статистически значимые показатели паренхиматозного компартмента перипортальных зон печеночных долек отражают увеличение объема гепатоцитов при воздействии Cd – как во 2-й, так и в 4-й группах. Для центрлобулярной и перивенулярной зон при сравнении групп четкой динамики не отмечено. При этом во всех группах, за исключением 3-й группы, показатели гепатоцитов центрлобулярной зоны превышали показатели перипортальной зоны, а перивенулярной –

After that a stereological analysis of the ultrastructural organization of hepatocytes was carried out, which, under conditions of chronic toxic exposure, demonstrated pronounced changes to varying degrees (Fig. 2, Table 2). In the 2nd group, hepatocytes of the periportal zone showed a statistically significant increase in the volumetric density of nuclei ($p = 0.004$), which was due to more numerous binuclear cells; in addition, the index of endoplasmic reticulum (ER) profiles was reduced ($p = 0.0001$). The volumetric density of the cytoplasm of hepatocytes in the centrilobular zone was statistically significantly increased ($p = 0.001$) compared to the control group, while the volumetric density of mitochondria decreased ($p = 0.0001$). In the perivenular zone, the volumetric density of the cytoplasm of hepatocytes increased ($p = 0.002$), while all other studied parameters (the volumetric density of nuclei ($p = 0.001$), mitochondria ($p = 0.0001$), and the ER ($p = 0.002$)) decreased.

Таблица 1. Тканевый стереологический анализ печени крысят Вистар (Vv , $\text{мм}^3/\text{см}^3$) при воздействии тяжелых металлов с учетом модели классической печеночной дольки
Table 1. Tissue stereological analysis of the liver of Wistar rat adolescents (Vv , $\text{мм}^3/\text{см}^3$) under the exposure of heavy metals, taking into account the model of a classical hepatic lobule

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max		P	Me (Q1; Q3) min; max		P	Me (Q1; Q3) min; max		P
	Перипортальная зона Periportal zone	Центролобуляр- ная зона Centrilobular zone		Перивенулярная зона Perivenular zone					
<i>Объемная плотность гепатоцитов / Volumetric density of hepatocytes</i>									
Контроль (1-я) Control (1st group)	685.5 (674.575; 696) 667; 703	–	–	701.5 (696; 703.825) 680; 715	–	–	730 (720.5; 738) 713; 738	–	–
Cd (2-я) (2nd group)	706.5 (704.25; 707.75) 697; 715	$p = 0.001$		722 (710.3; 725.75) 703; 733	$p = 0.001$ $p_3 = 0.008$		751 (742.75; 752.75) 733; 771	$p = 0.002$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.0001$	
Pb (3-я) (3rd group)	681 (668.75; 689.25) 664; 689	$p = 0.496$ $p_1 = 0.005$		715 (699; 720.25) 697; 725	$p = 0.082$ $p_1 = 0.059$ $p_3 = 0.002$		737 (727.5; 745) 720; 756	$p = 0.199$ $p_1 = 0.026$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.001$	
Cd + Pb (4-я) (4th group)	712 (699.5; 716.425) 687; 723	$p = 0.003$ $p_1 = 0.427$ $p_2 = 0.007$		684 (680; 699.25) 670; 710	$p = 0.045$ $p_1 = 0.0001$ $p_2 = 0.003$ $p_3 = 0.007$		803.5 (794.5; 809.75) 784; 821	$p = 0.0001$ $p_1 = 0.0001$ $p_2 = 0.0001$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.0001$	
<i>Объемная плотность синусоидов / Volumetric density of sinusoids</i>									
Контроль (1-я) Control (1st group)	103.5 (99.75; 105) 92.1; 107	–	–	117.5 (115.5; 123.5) 103; 131	–	–	123 (113; 128.75) 109; 133	–	–
Cd (2-я) (2nd group)	118.9 (117; 123) 115; 127	$p = 0.0001$		125 (119.25; 130.225) 111; 140	$p = 0.096$ $p_3 = 0.089$		146.5 (139.5; 147.75) 136; 168	$p = 0.0001$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.001$	
Pb (3-я) (3rd group)	111 (107.5; 112.75) 99; 123	$p = 0.002$ $p_1 = 0.002$		120 (114.25; 122) 106; 122	$p = 0.705$ $p_1 = 0.226$ $p_3 = 0.019$		141.5 (134.5; 146) 131; 163	$p = 0.0001$ $p_1 = 0.199$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.001$	
Cd + Pb (4-я) (4th group)	88.5 (85.5; 90.55) 79; 99	$p = 0.0001$ $p_1 = 0.0001$ $p_2 = 0.0001$		129 (123.25; 134) 115; 144	$p = 0.021$ $p_1 = 0.364$ $p_2 = 0.023$ $p_3 = 0.0001$		129.5 (118.25; 134.5) 114; 138	$p = 0.112$ $p_1 = 0.0001$ $p_2 = 0.005$ $p_3 = 0.0001$ $p_4 = 0.678$	

Примечание. p – отличие от контрольной группы; p_1 – отличие от 2-й группы; p_2 – отличие от 3-й группы; p_3 – сравнение с аналогичными показателями перипортальной зоны; p_4 – сравнение с аналогичными показателями центролобулярной зоны.
 Notes. p – difference from the control group; p_1 – difference from the 2nd group; p_2 – difference from the 3rd group; p_3 – comparison with similar indicators of the periportal zone; p_4 – comparison with similar indicators of the centrilobular zone.

показатели каждой из предыдущих зон, что может свидетельствовать о нарастающем внутриклеточном отеке.

Далее был проведен стереологический анализ ультраструктурной организации гепатоцитов, которые в условиях хронического токсического воздействия демонстрировали в различной степени выраженные изменения (рис. 2, табл. 2). Во 2-й группе в гепатоцитах перипортальной зоны выявлено статистически значимое увеличение

In the 3rd group (exposure to Pb alone), ultrastructural changes in hepatocytes of the periportal zone were represented by a decrease in the volumetric density of ER profiles ($p = 0.001$). The central zone of the lobules was characterized by a decrease in the volumetric density of mitochondria ($p = 0.0001$). In the perivenular zone, similarly to the previous group, the volumetric density of hepatocyte nuclei ($p = 0.003$), mitochondria ($p = 0.005$), and the ER ($p = 0.005$) was statistically significantly reduced.

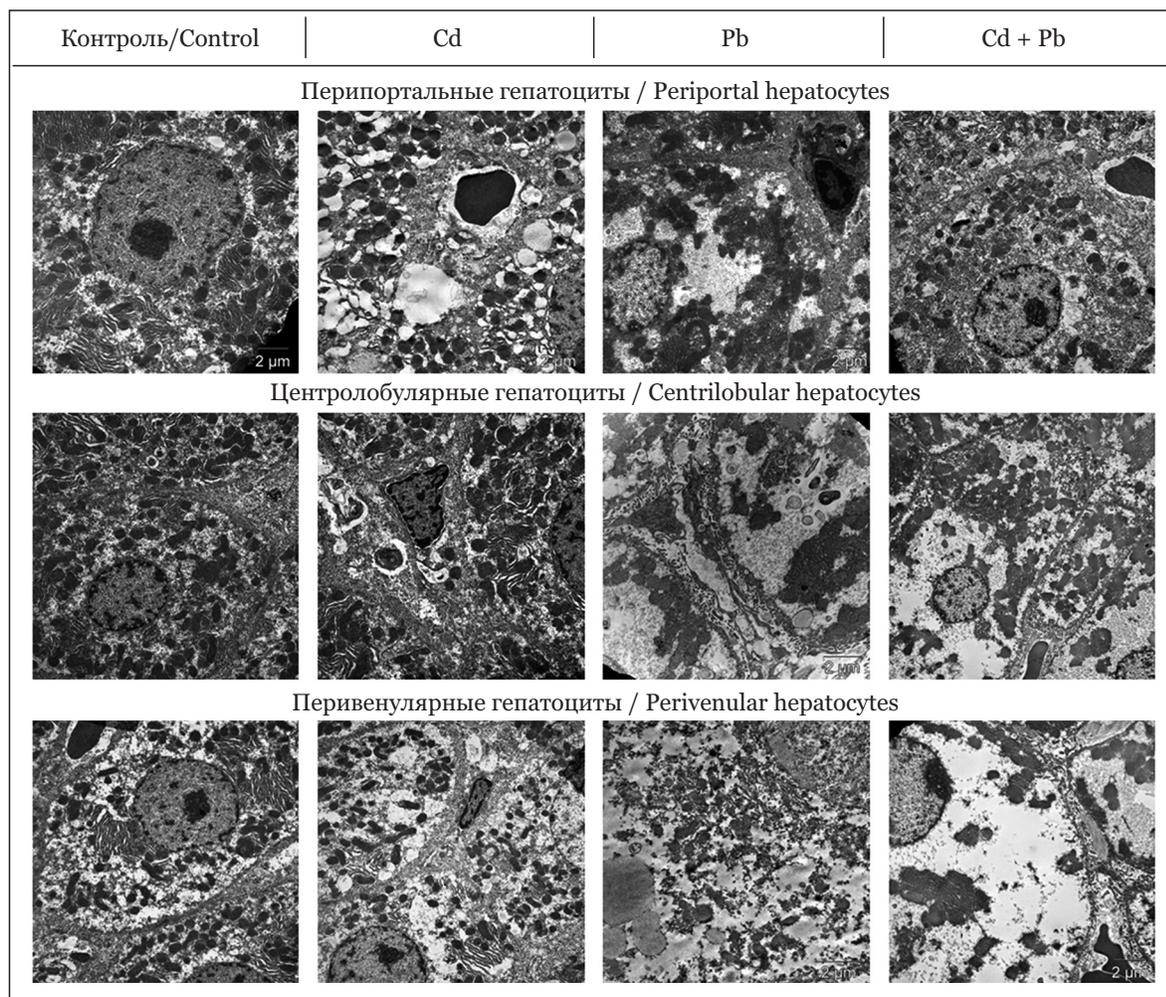


Рис. 2. Электронно-микроскопическое исследование печени крысят-самцов Вистар после хронического моно- или сочетанного воздействия субтоксических доз Cd и Pb с учетом локализации в классической дольке. Электронограммы. Ув. $\times 4000$

Fig. 2. Electron microscopy of the liver of male Wistar rat adolescents after chronic single or combined exposure to subtoxic doses of Cd and Pb, taking into account localization in the classical lobule. Electronograms. Magn. $\times 4000$

объемной плотности ядер ($p = 0.004$), что обусловлено более многочисленными двуядерными клетками; кроме того, был снижен показатель профилей эндоплазматической сети (ЭПС) ($p = 0.0001$). Объемная плотность цитоплазмы гепатоцитов центролобулярной зоны статистически значимо увеличена ($p = 0.001$) по сравнению с показателями контрольной группы, при этом снизилась объемная плотность митохондрий ($p = 0.0001$). В перивенулярной зоне увеличилась объемная плотность цитоплазмы гепатоцитов ($p = 0.002$), тогда как все остальные изучаемые показатели – объемная плотность ядер ($p = 0.001$), митохондрий ($p = 0.0001$) и ЭПС ($p = 0.002$) – снизились.

В 3-й группе (моновоздействие Pb) ультраструктурные изменения гепатоцитов перипор-

In the 4th group with prolonged combined exposure to toxins, a statistically significant decrease in the volumetric density of mitochondria ($p = 0.001$) and the ER ($p = 0.005$) of periportal hepatocytes, as well as nuclei ($p = 0.011$), mitochondria ($p = 0.0001$) and the ER ($p = 0.016$) of hepatocytes of the centrilobular zone. In the perivenular zone, the volumetric densities of nuclei ($p = 0.0001$) and mitochondria ($p = 0.049$) decreased, while the parameters of the ER ($p = 0.004$) and cytoplasm ($p = 0.002$) increased, which may be associated with the induction of xenobiotic metabolism on smooth ER membranes in presence of intracellular edema and a decrease in protein synthesis.

In general, in all experimental groups for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a sta-

Таблица 2. Ультраструктурное стереологическое исследование гепатоцитов крысят Вистар (V_v , мм³/см³) при токсическом воздействии в зависимости от локализации в классической печеночной дольке
Table 2. Ultrastructural stereological study of hepatocytes of Wistar rat adolescents (V_v , mm³/cm³) in toxic effects depending on localization in the classical hepatic lobule

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max		Me (Q1; Q3) min; max		Me (Q1; Q3) min; max	
	Перипортальная зона Periportal zone	<i>p</i>	Центролобулярная зона Centrilobular zone	<i>p</i>	Перивенулярная зона Perivenular zone	<i>p</i>
<i>Объемная плотность ядер / Volumetric density of nuclei</i>						
Контроль (1-я) Control (1st group)	52.55 (51.25; 53) 48; 56	–	52.5 (49.8; 56.5) 45; 59	–	52.2 (48.75; 54.75) 45; 56	–
Cd (2-я) (2nd group)	57 (55; 59.25) 49; 63	<i>p</i> = 0.004	48 (46.25; 53.75) 43; 58	<i>p</i> = 0.151 <i>p</i> ₃ = 0.008	43.5 (39.75; 45.75) 37; 47	<i>p</i> = 0.001 <i>p</i> ₃ = 0.001 <i>p</i> ₄ = 0.001
Pb (3-я) (3rd group)	55 (53; 55) 51; 58	<i>p</i> = 0.059 <i>p</i> ₁ = 0.121	51.5 (46.5; 55.75) 45; 59	<i>p</i> = 0.545 <i>p</i> ₁ = 0.45 <i>p</i> ₃ = 0.151	43.5 (38.75; 47.75) 34; 51	<i>p</i> = 0.003 <i>p</i> ₁ = 0.678 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.008
Cd + Pb (4-я) (4th group)	54.5 (53; 55) 49; 59	<i>p</i> = 0.096 <i>p</i> ₁ = 0.054 <i>p</i> ₂ = 0.705	47 (45.25; 49.5) 44; 52	<i>p</i> = 0.011 <i>p</i> ₁ = 0.406 <i>p</i> ₂ = 0.064 <i>p</i> ₃ = 0.001	40 (38.25; 44) 37; 46	<i>p</i> = 0.0001 <i>p</i> ₁ = 0.326 <i>p</i> ₂ = 0.345 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.002
<i>Объемная плотность цитоплазмы / Volumetric density of the cytoplasm</i>						
Контроль (1-я) Control (1st group)	102.5 (99; 109.25) 89; 114	–	134.5 (130; 136.75) 124; 147	–	133 (127.8; 136.5) 124; 141	–
Cd (2-я) (2nd group)	106 (101.25; 112.55) 97; 116	<i>p</i> = 0.364	152.7 (146; 156.75) 138; 160	<i>p</i> = 0.001 <i>p</i> ₃ = 0.632	144 (140.75; 147.75) 131; 152	<i>p</i> = 0.002 <i>p</i> ₃ = 0.632 <i>p</i> ₄ = 0.001
Pb (3-я) (3rd group)	107.5 (99; 120.5) 95; 125	<i>p</i> = 0.385 <i>p</i> ₁ = 0.821	141.5 (136.5; 149.5) 127; 159	<i>p</i> = 0.082 <i>p</i> ₁ = 0.041 <i>p</i> ₃ = 0.0001	139.5 (136.5; 144.75) 117; 161	<i>p</i> = 0.089 <i>p</i> ₁ = 0.199 <i>p</i> ₃ = 0.001 <i>p</i> ₄ = 0.597
Cd + Pb (4-я) (4th group)	107.5 (101.25; 120.25) 99; 126	<i>p</i> = 0.241 <i>p</i> ₁ = 0.545 <i>p</i> ₂ = 0.705	132 (124.75; 133.75) 109; 139	<i>p</i> = 0.162 <i>p</i> ₁ = 0.0001 <i>p</i> ₂ = 0.006 <i>p</i> ₃ = 0.004	146 (138.25; 152) 135; 162	<i>p</i> = 0.002 <i>p</i> ₁ = 0.597 <i>p</i> ₂ = 0.174 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.001
<i>Объемная плотность ЭПС / Volumetric density of the ER</i>						
Контроль (1-я) Control (1st group)	35.5 (34; 37.275) 29; 40	–	33 (29.25; 36.525) 24; 38	–	23.5 (20.35; 27) 18; 32	–
Cd (2-я) (2nd group)	25 (23.775; 28) 19; 30	<i>p</i> = 0.0001	28.65 (26.7; 32.25) 25; 37	<i>p</i> = 0.14 <i>p</i> ₃ = 0.001	18.5 (16.25; 19) 12; 21	<i>p</i> = 0.002 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.0001
Pb (3-я) (3rd group)	20 (25.25; 30.75) 20; 33	<i>p</i> = 0.001 <i>p</i> ₁ = 0.257	31.5 (27.25; 33) 24; 37	<i>p</i> = 0.345 <i>p</i> ₁ = 0.623 <i>p</i> ₃ = 0.121	18.1 (17.25; 19.75) 16; 22	<i>p</i> = 0.005 <i>p</i> ₁ = 0.571 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.0001
Cd + Pb (4-я) (4th group)	27 (25.25; 31) 22; 41	<i>p</i> = 0.005 <i>p</i> ₁ = 0.326 <i>p</i> ₂ = 0.91	26.5 (25.05; 29.25) 23; 32	<i>p</i> = 0.016 <i>p</i> ₁ = 0.151 <i>p</i> ₂ = 0.07 <i>p</i> ₃ = 0.705	31 (28.25; 35.75) 27; 39	<i>p</i> = 0.004 <i>p</i> ₁ = 0.0001 <i>p</i> ₂ = 0.0001 <i>p</i> ₃ = 0.064 <i>p</i> ₄ = 0.01

Группа Group	Me (Q1; Q3) min; max		Me (Q1; Q3) min; max		Me (Q1; Q3) min; max	
	Перипортальная зона Periportal zone	<i>P</i>	Центролобуляр- ная зона Centrilobular zone	<i>P</i>	Перивенулярная зона Perivenular zone	<i>P</i>
<i>Объемная плотность митохондрий / Volumetric density of mitochondria</i>						
Контроль (1-я) Control (1st group)	162.2 (157.5; 164.75) 151; 174	–	157.5 (153.925; 160.5) 142; 167	–	135 (125.25; 138.975) 111; 147	–
Cd (2-я) (2nd group)	164 (160.5; 170.5) 154; 181	<i>p</i> = 0.385	128 (122.5; 133.65) 119; 136	<i>p</i> = 0.0001 <i>p</i> ₃ = 0.0001	100.7 (95.75; 106.25) 87; 123	<i>p</i> = 0.0001 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.0001
Pb (3-я) (3rd group)	158.5 (152.5; 163.5) 147; 174	<i>p</i> = 0.385 <i>p</i> ₁ = 0.096	128.5 (127; 135.25) 121; 145	<i>p</i> = 0.0001 <i>p</i> ₁ = 0.473 <i>p</i> ₃ = 0.0001	109.5 (99.75; 111.5) 89; 145	<i>p</i> = 0.005 <i>p</i> ₁ = 0.174 <i>p</i> ₃ = 0.0001 <i>p</i> ₄ = 0.005
Cd + Pb (4-я) (4th group)	140.5 (137; 144) 132; 164	<i>p</i> = 0.001 <i>p</i> ₁ = 0.001 <i>p</i> ₂ = 0.002	125.5 (123.25; 129.18) 117; 131	<i>p</i> = 0.0001 <i>p</i> ₁ = 0.473 <i>p</i> ₂ = 0.199 <i>p</i> ₃ = 0.0001	109.5 (99.5; 130.25) 98; 146	<i>p</i> = 0.049 <i>p</i> ₁ = 0.082 <i>p</i> ₂ = 0.521 <i>p</i> ₃ = 0.009 <i>p</i> ₄ = 0.241

Примечание. *p* – отличие от контрольной группы; *p*₁ – отличие от 2-й группы; *p*₂ – отличие от 3-й группы; *p*₃ – сравнение с аналогичными показателями перипортальной зоны; *p*₄ – сравнение с аналогичными показателями центролобулярной зоны; ЭПС – эндоплазматическая сеть.

Note. *p* – difference from the control group; *p*₁ – difference from the 2nd group; *p*₂ – difference from the 3rd group; *p*₃ – comparison with similar indicators of the periportal zone; *p*₄ – comparison with similar indicators of the centrilobular zone; ER – the endoplasmic reticulum.

тальной зоны представлены снижением объемной плотности профилей ЭПС (*p* = 0.001). Центролобулярная зона долек характеризовалась снижением объемной плотности митохондрий (*p* = 0.0001). В перивенулярной зоне, аналогично предыдущей группе, статистически значимо уменьшена объемная плотность ядер гепатоцитов (*p* = 0.003), митохондрий (*p* = 0.005) и ЭПС (*p* = 0.005).

В 4-й группе с длительным сочетанным воздействием токсинов выявлено статистически значимое снижение объемной плотности митохондрий (*p* = 0.001) и ЭПС (*p* = 0.005) перипортальных гепатоцитов, а также ядер (*p* = 0.011), митохондрий (*p* = 0.0001) и ЭПС (*p* = 0.016) гепатоцитов центролобулярной зоны. В перивенулярной зоне уменьшились объемные плотности ядер (*p* = 0.0001) и митохондрий (*p* = 0.049), при этом увеличились показатели ЭПС (*p* = 0.004) и цитоплазмы (*p* = 0.002), что может быть связано с индукцией метаболизма ксенобиотиков на мембранах гладкой ЭПС на фоне внутриклеточного отека и снижения синтеза белков.

В целом во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной дольки характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности ЭПС; для центролобулярной

статистически значимое снижение в объемной плотности ЭПС; для центролобулярной зоны – митохондрии; для перивенулярной зоны – митохондрии и ядра гепатоцитов, что указывает на дистрофическую природу реакции паренхимы печени предпубертальных крыс на хроническое воздействие токсичных металлов с уменьшением функций белка и АТФ биосинтеза.

Липидная инфильтрация цитоплазмы гепатоцитов была отмечена в 3-й группе и в большей степени она характерна для перипортальной и центролобулярных зон. Образование аутофагосом привлекло внимание в 3-й и 4-й группах (с воздействием на Pb), с признаками преимущественно митохондриальной утилизации, а также вакуолизированных профилей ЭПС. Во всех экспериментальных группах свободный цитоплазматический органелл свободный цитоплазматический органелл увеличился статистически значимо, отражая нарушения цитоскелета, коллапс мембранных структур и матричный отек, который лежит в основе гепатоцеллюлярного баллоoning.

Следует отметить, что у животных экспериментальных групп, помимо изменений в строении, у животных контрольной группы не было обнаружено; в дополнение к этому, животные групп 2–4 gained body weight, что указывает на наличие компенсаторных механизмов. Электронная микроскопия образцов печени выявила расширение

зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов, что свидетельствует о дистрофическом характере реагирования паренхиматозных клеток печени крыс препубертатного возраста на хроническое воздействие токсичных металлов со снижением функций биосинтеза белка и АТФ.

Липидная инфильтрация цитоплазмы гепатоцитов отмечена в 3-й группе, причем в большей мере она характерна для перипортальных и центробиулярных зон. Формирование аутофагосом обращало на себя внимание в 3-й и 4-й группах (с воздействием Pb), с признаками утилизации преимущественно митохондрий, а также вакуолизованных профилями ЭПС. Во всех опытных группах статистически значимо возросли стереологические показатели свободной от органелл цитоплазмы, отражая нарушения цитоскелета, коллапс внутриклеточных мембранных структур и отек матрикса, лежащий в основе «баллонной» дистрофии.

Следует отметить, что у животных опытных групп, помимо изменения шерстного покрова, других визуальных отличий от крысят контрольной группы не выявлено; кроме того, животные 2–4-й групп увеличивали массу тела, что свидетельствует о наличии компенсаторных механизмов. При электронно-микроскопическом исследовании образцов печени обращали на себя внимание расширение пространств Диссе и гиперплазия микроворсинок васкулярного полюса гепатоцитов, отражающие усиление обменных процессов. Митохондрии были преимущественно мелкие, с плотным матриксом и приурочены к плазмолеммам васкулярного полюса, а также формировали перинуклеарные комплексы вместе с короткими параллельными цистернами гранулярной ЭПС – так называемые фокусы внутриклеточной регенерации. Кроме того, почти во всех ядрах опытных групп имелись ядрышки. Перечисленные ультраструктурные особенности гепатоцитов можно рассматривать как стереотипные компенсаторные реакции, описанные, например, при вирусных гепатитах [11].

Как известно, токсичность Cd и Pb обусловлена их способностью заменять в ионных каналах мембран жизненно необходимые поливалентные катионы Ca, Zn и др. [12]. Кроме того, Cd и Pb негативно влияют на систему антиоксидантной защиты, нарушая молекулярную структуру и функции супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы, способствуя развитию хронического окислительного стресса и поражению

Disse's spaces and hyperplasia of the microvilli of the vascular pole of hepatocytes, reflecting an increase in metabolic processes. Mitochondria were predominantly small, with a dense matrix and confined to the cell membranes of the vascular pole, and also formed perinuclear complexes together with short parallel cisterns of the granular ER – the so-called foci of intracellular regeneration. In addition, almost all the nuclei of the experimental groups had nucleoli. The listed ultrastructural features of hepatocytes can be considered as stereotypical compensatory reactions, described, for example, in viral hepatitis [11].

As is known, the toxicity of Cd and Pb is due to their ability to replace vital polyvalent cations Ca, Zn, etc. in the ion channels of membranes [12]. In addition, Cd and Pb negatively affect the antioxidant defense system, disturbing the molecular structure and functions of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase, contributing to the development of chronic oxidative stress and damage to mitochondria [13]. Apparently, the effects of both toxicants are dose-dependent and are also determined by the duration of exposure.

CONCLUSION

Intoxication for 3 weeks with cadmium sulfate (Cd) and lead acetate (Pb) in prepubertal male Wistar rats (4 weeks adolescents) led to changes in the ultrastructural organization of hepatocytes. Taking into account the model of classical hepatic lobule, tissue stereological analysis revealed a statistically significant increase in the volume of hepatocytes in the periportal zones when exposed to Cd (groups 2 and 4). In all groups, with the exception of the 3rd (Pb), an increase in the parenchymal compartment in the porto-central gradient was revealed, reflecting the formation of hepatocellular ballooning. In all experimental groups for the periportal zone of the hepatic lobule, a characteristic feature of the ultrastructure of hepatocytes was a statistically significant decrease in the volumetric density of the ER; for the centrilobular zone – of mitochondria; for the perivenular zone – mitochondria and nuclei of hepatocytes. The formation of autophagosomes with signs of predominantly mitochondrial utilization attracted attention in groups exposed to Pb. Pathological changes are compensated by increased transsinusoidal metabolism and complexes of biosynthesis organelles.

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

митохондрий [13]. По-видимому, эффекты обоих токсикантов дозозависимы и определяются также длительностью воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интоксикация в течение 3 нед сульфатом кадмия (Cd) и ацетатом свинца (Pb) крысят-самцов Вистар препубертатного возраста (4 нед) привела к изменениям ультраструктурной организации гепатоцитов. С учетом модели классической печеночной дольки, тканевый стереологический анализ обнаружил статистически значимое увеличение объема гепатоцитов перипортальных зон при воздействии Cd (2-я и 4-я группы). Во всех группах, за исключением 3-й (Pb), выявлено увеличение паренхиматозного компартмента в порто-венулярном градиенте, отражающее фор-

мирование «баллонной» дистрофии. Во всех опытных группах для перипортальной зоны печеночной дольки характерной особенностью ультраструктуры гепатоцитов было статистически значимое снижение объемной плотности ЭПС; для централобулярной зоны – митохондрий; для перивенулярной зоны – митохондрий и ядер гепатоцитов. Формирование аутофагосом с признаками утилизации преимущественно митохондрий обращало на себя внимание в группах с воздействием Pb. Патологические изменения компенсированы усилением транссинусoidalного обмена и наличием комплексов оргanelл биосинтеза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sherma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2017;54(7–8):506–528. doi: 10.1080/10408363.2017.1408562.
2. Obeng-Gyasi E. Sources of lead exposure in various countries // *Rev. Environ. Health.* 2019;26(34):25–34. doi: 10.1515/reveh-2018-0037.
3. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M.R., Sadeghi M. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic // *Front. Pharmacol.* 2021; 12:643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972.
4. Pi H., Xu S., Reiter R.J. et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin // *Autophagy.* 2015;11(7):1037–1051. doi: 10.1080/15548627.2015.1052208.
5. Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. The effects of cadmium toxicity // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782.
6. Ивашкин В.Т., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В. и др. Лекарственно-индуцированное поражение печени: Универсальные структурные маркеры // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2009;19(2):20–29.
7. Ueno T., Komatsu M. Autophagy in the liver: Functions in health and disease // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017;14(3):170–184. doi: 10.1038/nrgastro.2016.185.
8. Weiskirchen R., Tacke F. Relevance of autophagy in parenchymal and non-parenchymal liver cells for health and disease // *Cells.* 2019;8(1):16. doi: 10.3390/cells8010016.
9. Наркевич А.Н., Виноградов К.А., Гржибовский А.М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения // *Экология человека* 2020;10:55–64. doi: 10.33396/1728-08-69-2020-10-55-64.
10. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 216 с.

REFERENCES

1. Mitra P., Sharma S., Purohit P., Sherma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2017;54(7–8):506–528. doi: 10.1080/10408363.2017.1408562.
2. Obeng-Gyasi E. Sources of lead exposure in various countries. *Rev. Environ. Health.* 2019;26(34):25–34. doi: 10.1515/reveh-2018-0037.
3. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M.R., Sadeghi M. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Front. Pharmacol.* 2021;12:643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972.
4. Pi H., Xu S., Reiter R.J. et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin. *Autophagy.* 2015;11(7):1037–1051. doi: 10.1080/15548627.2015.1052208.
5. Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., Catalano A. The effects of cadmium toxicity. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(11):3782. doi: 10.3390/ijerph17113782.
6. Ivashkin V.T., Nepomnyashchykh G.I., Aydagulova S.V. et al. Drug-induced lesion of the liver: general-purpose morphological markers. *Russ. J. of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2009;19(2):20–29. (In Russ.)
7. Ueno T., Komatsu M. Autophagy in the liver: Functions in health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017;14(3):170–184. doi: 10.1038/nrgastro.2016.185.
8. Weiskirchen R., Tacke F. Relevance of autophagy in parenchymal and non-parenchymal liver cells for health and disease. *Cells.* 2019;8(1):16. doi: 10.3390/cells8010016.
9. Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Grjibovskiy A.M. Multiple comparisons in biomedical research: the problem and solutions. *Human Ecology.* 2020;10:55–64. doi: 10.33396/1728-08-69-2020-10-55-64. (In Russ.)
10. Petrie A., Sabin K. (2019). *Medical Statistics at a Glance* (V.P. Leonov, Trans. from Engl.). Moscow: GEOTAR-Media. 216 p.

11. Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В., Постникова О.А. и др. Морфогенез хронического гепатита С и инфекционно-вирусного цирроза печени // Клин. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2012;2:13–21.
12. Xiao C., Liu Y., Xie C. et al. Cadmium induces histone H3 lysine methylation by inhibiting histone demethylase activity // Toxicol. Sci. 2015;145(1):80–89. doi: 10.1093/toxsci/kfv019.
13. Liu Z., Cai L., Liu Y., Chen W., Wang Q. Association between prenatal cadmium exposure and cognitive development of offspring: A systematic review // Environ. Pollut. 2019;254(PtB):113081. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113081.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Елясин Павел Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека им. акад. Ю.И. Бородина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Залавина Светлана Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Машак Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека им. акад. Ю.И. Бородина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Равилова Юлия Равильевна – канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Машак Светлана Владимировна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М.Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Айдагулова Светлана Владимировна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

11. Nepomnyashchikh G.I., Aidagulova S.V., Postnikova O.A. et al. Morphogenesis of chronic hepatitis C and infectious-viral liver cirrhosis. *Clinical Perspectives of Gastroenterology, Hepatology*. 2012;2:13–21. (In Russ.)
12. Xiao C., Liu Y., Xie C. et al. Cadmium induces histone H3 lysine methylation by inhibiting histone demethylase activity. *Toxicol. Sci.* 2015;145(1):80–89. doi: 10.1093/toxsci/kfv019.
13. Liu Z., Cai L., Liu Y., Chen W., Wang Q. Association between prenatal cadmium exposure and cognitive development of offspring: A systematic review. *Environ. Pollut.* 2019;254(PtB):113081. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113081.

ABOUT THE AUTHORS

Pavel A. Elyasin – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Yu.I. Borodin Department of Human Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Zalavina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, M.Ya. Subbotin Department of Histology, Embryology and Cytology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Aleksandr N. Mashak – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Yu.I. Borodin Department of Human Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Yulia R. Ravilova – Cand. Sci. (Med.), Senior Lecturer, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Mashak – Dr. Sci. (Med.), Professor, M.Ya. Subbotin Department of Histology, Embryology and Cytology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Aidagulova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of Cell Biology and Fundamentals of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Экспериментальная оценка лечебных свойств мази на основе меланинов из природного сырья и глубинной культуры чаги

Е.А. Ставский¹, Т.В. Теплякова², И.С. Андреева², Е.С. Давыдова¹, А.А. Ставская¹,
А.Л. Потешкина²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирская область, пос. Кольцово, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В связи с приобретением устойчивости к антибиотикам гноеродной микробиоты обострилась проблема местного (медикаментозного) лечения ран.

Ц е л ь . Экспериментальная оценка антибиотических свойств меланина из природного сырья и глубинной культуры чаги (*Inonotus obliquus*) *in vitro* и лечебных свойств мазей, приготовленных на основе указанных меланинов, *in vivo*.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Меланины получали методом щелочного гидролиза. Антибиотическую активность меланинов определяли при совместном культивировании в жидкой среде исследуемых образцов с шестью культурами тест-штаммов грамотрицательных и грамположительных бактерий и двух дрожжевых грибов. Мази на основе меланина из природного сырья и глубинной культуры чаги штамма *Inonotus obliquus* F-1244 получали с использованием двух составов мазевых основ. Ранозаживляющую эффективность мазей оценивали на трех группах мышей. Контрольными являлись группы мышей, ничем не леченных и леченных мазью сравнения Левомикон-ТФФ. Лечение мышей продолжали до момента заживления у них резаных кожных ран. Ежедневно у мышей во всех группах оценивали площади ран, двигательную активность, аппетит, динамику и характер заживления ран, а также через каждые трое суток изменение у них массы тела.

Р е з у л ь т а т ы . Меланины из природного сырья и глубинной культуры чаги полностью подавляли размножение грамположительной спорообразующей бактерии *Bacillus cereus* в совместной культуре. Меланин из природного сырья чаги в среднем на порядок подавлял рост золотистого стафилококка штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Меланин из глубинной культуры чаги полностью подавлял рост клинического изолята высокопатогенного штамма *Candida sp.* Ft-5 от умершего больного с генерализованной кандидозной инфекцией и в среднем на два порядка активнее ингибировал рост коллекционного штамма дрожжей *Candida albicans* 620.

Было установлено, что мази на основе меланина из природного сырья и глубинной культуры чаги, а также мазь, содержащая пятикратно увеличенную концентрацию меланина из природной чаги, не обладают токсичностью для экспериментальных животных. Мази, содержащие по 0.4 мг меланина из природного сырья и глубинной культуры чаги на 0.2 г одноразовой дозы мази, обладали одинаковой ранозаживляющей эффективностью, при этом не только не уступали по этому показателю комбинированному противомикробному препарату сравнения Левомикон-ТФФ, но и продемонстрировали тенденцию более ускоренного заживления ран (на 15–18-е сутки наблюдения) по сравнению с процессом регенерации ран у группы животных, леченных препаратом сравнения. Был продемонстрирован более ускоренный эффект заживления ран у экспериментальных животных (уже на 12-е сутки наблюдения), леченных с пятикратно увеличенным содержанием меланина из природного сырья чаги, по сравнению с мышами, леченными препаратом сравнения.

З а к л ю ч е н и е . Мази, содержащие меланин чаги (*Inonotus obliquus*), обладают противовоспалительными, регенеративными свойствами и могут рассматриваться в качестве перспективных для местного лечения ран.

Ключевые слова: высшие базидиомицеты, гриб чага (*Inonotus obliquus*), мазь, мазевая основа, состав, пропись, поверхностная кожная рана.

Образец цитирования: Ставский Е.А., Теплякова Т.В., Андреева И.С., Давыдова Е.С., Ставская А.А., Потешкина А.Л. Экспериментальная оценка лечебных свойств мази на основе меланинов из природного сырья и глубинной культуры чаги // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):93–105. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-93-105

Поступила в редакцию 16.06.2021
Прошла рецензирование 27.09.2021
Принята к публикации 15.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Ставский Евгений Александрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: stavskiyngmu@mail.ru

Received 16.06.2021
Revised 27.09.2021
Accepted 15.10.2021

Corresponding author
Evgeniy A. Stavsky: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: stavskiyngmu@mail.ru

Experimental evaluation of therapeutic properties of ointment based on melanins from natural raw material and a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus*)

E.A. Stavsky¹, T.V. Teplyakova², I.S. Andreeva², E.S. Davydova¹, A.A. Stavskaya¹, A.L. Poteshkina²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Novosibirsk Region, Koltsovo village, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Due to the acquisition of antibiotic resistance by pyogenic microbiota, the problem of topical (drug) treatment of wounds has worsened.

A i m . Experimental evaluation of the antibiotic properties of melanin from natural raw material and a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus*) *in vitro* and the therapeutic properties of ointments prepared on the basis of these melanins *in vivo*.

M a t e r i a l s a n d M e t h o d s . Melanins were obtained by alkaline hydrolysis. The antibiotic activity of melanins was determined by co-cultivation in a liquid medium of the studied samples with six cultures of test strains of gram-negative and gram-positive bacteria and two of yeast fungi. Ointments based on melanin from natural raw material and the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) were obtained using two compositions of ointment base. The wound-healing efficacy of ointments was evaluated on three groups of mice. The control groups were mice untreated and treated with a comparison drug (Levomikon-TFF). The treatment of mice was continued until their incised skin wounds healed. Wound areas, motor activity, appetite, dynamics and character of wound healing were assessed daily in mice of all groups, as well as changes in their body weight every three days.

R e s u l t s . Melanins from natural raw materials and the submerged culture of chaga completely suppressed the growth of gram-positive spore-forming *Bacillus cereus* bacterium in a co-culture. Melanin from natural raw material of chaga on average suppressed the growth of the *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain by an order of magnitude. Melanin from the submerged chaga culture completely suppressed the growth of a clinical isolate of the highly pathogenic *Candida sp.* Ft-5 strain from a deceased patient with generalized candida infection and, on average, inhibited the growth of the collection strain of yeast *Candida albicans* 620 by two orders of magnitude more intensively.

It was found that ointments based on melanin from natural raw materials and the submerged culture of chaga, as well as ointment containing a fivefold increased concentration of melanin from natural chaga, do not have toxicity to experimental animals. Ointments containing 0.4 mg of melanin from natural raw material and the submerged chaga culture per 0.2 g of a single dose of ointment had the same wound healing efficacy, while not only were not inferior in this indicator to the combined antimicrobial comparison drug Levomikon-TFF, but also showed a tendency to more accelerated wound healing (on the 15–18th day of observation) compared with the process of wound regeneration in the group of animals treated with the drug of comparison. A more accelerated wound healing effect was demonstrated in experimental animals (already on the 12th day of observation) treated with a fivefold increased content of melanin from natural raw material of chaga, compared with mice treated with the comparison drug.

C o n c l u s i o n . Ointments containing melanin of chaga (*Inonotus obliquus*) have anti-inflammatory, regenerative properties and can be considered promising for topical treatment of wounds.

Keywords: higher basidiomycetes, chaga mushroom (*Inonotus obliquus*), ointment, ointment base, formulation, prescription, superficial wound.

Citation example: Stavsky E.A., Teplyakova T.V., Andreeva I.S., Davydova E.S., Stavskaya A.A., Poteshkina A.L. Experimental evaluation of therapeutic properties of ointment based on melanins from natural raw material and a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus*). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):93–105. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-93-105

ВВЕДЕНИЕ

Исследования показали, что высшие базидиомицеты способны синтезировать широкий комплекс биологически активных веществ, таких как полисахариды, гликопротеины, терпены, стеролы, пигменты и др. [1–5], которые могут проявлять антибактериальные [1, 6], противовирус-

INTRODUCTION

Studies have shown that higher basidiomycetes are able to synthesize a wide range of biologically active substances, such as polysaccharides, glycoproteins, terpenes, sterols, pigments, etc. [1–5], which can exhibit antibacterial [1, 6], antiviral [1, 7–12], antitumor, antiparasitic, and immunomodulatory

ные [1, 7–12], противоопухолевые, антипаразитарные и иммуномодулирующие свойства [1–3]. При этом указанные комплексы из базидиомицетов, как правило, не являются токсичными или малотоксичными для человека или животных [1–7]. В связи с нарастающей бактериальной устойчивостью к применяющимся антибиотикам, большим количеством нежелательных побочных последствий антибиотиков для организма человека и животных, измененной реактивностью организма, прежде всего человека, обусловившими актуальность проблемы как общей антибиотикотерапии, так и местного (медикаментозного) лечения ран из-за растущей резистентности гноеродной микробиоты, возник заметный интерес к созданию на основе высших базидиомицетов и представителей других систематических групп грибов [1] новых антибиотиков. Известно большое количество различных лекарственных препаратов для лечения гнойных ран. По характеру своего действия эти препараты могут быть объединены в следующие основные группы: препараты отсасывающего действия, включающие солевые растворы, сорбенты и др.; раневые бактериофаги, микробные ассоциации и др.; препараты некролитического действия, включающие протеолитические ферменты, кислоты, антисептики; препараты антимикробного действия, в состав которых входят антибиотики и др. [13–16]. Учитывая тот факт, что высшие базидиальные грибы продуцируют широкий спектр биологически активных веществ, представляется актуальным оценить, в частности, перспективность использования и практическую значимость меланинов указанных грибов [4–5], а также возможность создания на их основе мазей для местного лечения ран.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная оценка антибиотических свойств меланина из природного сырья и глубинной культуры чаги *in vitro* и лечебных свойств мазей, приготовленных на основе указанных меланинов, *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью оценки биологических свойств меланинов чаги определяли их антибактериальную и антигрибковую активности при совместном культивировании в жидкой среде исследуемых образцов с культурами тест-штаммов грамотрицательных и грамположительных бактерий и дрожжевых грибов, являющихся, наряду с другими микробами, наиболее частой причиной развития

properties [1–3]. At the same time, these complexes from basidiomycetes, as a rule, are not toxic or low-toxic to humans or animals [1–7]. Due to the increasing bacterial resistance to the antibiotics used, a large number of adverse effects of antibiotics for the human and animal body, the altered reactivity of the body, primarily human, which caused the urgency of the problem of both general antibiotic therapy and topical (drug) treatment of wounds due to the growing resistance of the pyogenic microbiota, there was a noticeable interest in the creation of new antibiotics based on higher basidiomycetes and representatives of other systematic groups of fungi [1]. A large number of different medications for the treatment of purulent wounds are known. By the nature of their action, these medicines can be combined into the following main groups: sump action preparations, including saline solutions, sorbents, etc.; wound bacteriophages, microbial associations, etc.; necrolytic drugs, including proteolytic enzymes, acids, antiseptics; antimicrobial drugs, which include antibiotics, etc. [13–16]. Considering the fact that higher basidiomycetes fungi produce a wide range of biologically active substances, it seems relevant to assess, in particular, the prospects for the use and practical significance of melanins of these fungi [4–5], as well as the possibility of creating ointments based on them for topical wound treatment.

AIM OF THE RESEARCH

Experimental evaluation of the antibiotic properties of melanin from natural raw material and a submerged culture of chaga *in vitro*, and the therapeutic properties of ointments prepared on the basis of these melanins *in vivo*.

MATERIALS AND METHODS

In order to assess the biological properties of the melanins of chaga, their antibacterial and antifungal activity was determined when the studied samples were co-cultured in a liquid medium with cultures of test strains of gram-negative and gram-positive bacteria and yeast fungi, which, along with other microbes, are the most common cause of wound infection. These strains of microorganisms are deposited in the museum collection of the State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” (Vector Research Center) and belong to the 3–4th group of pathogenicity for humans [17]. The studied 0.5 ml chaga samples were introduced into test tubes with 4.5 ml of LB medium (Difco, USA), and 0.1 ml of 24 hour culture of the test strain of the microorganism suspended in saline solution was added to gain optical density of 10^{5-6} cell/ml. Fur-

ранево́й инфекции. Указанные штаммы микроорганизмов депонированы в музейной коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (научный центр «Вектор») и относятся к 3–4-й группе патогенности для человека [17]. Исследуемые образцы чаги по 0.5 мл вносили в пробирки с 4.5 мл среды LB (Difco, USA) и добавляли 0.1 мл суточной культуры тест-штамма микроорганизма, суспендированной в физиологическом растворе, до оптической плотности 10^{5-6} кл/мл. Далее пробирки с культурами и образцами выдерживали в аэрируемых условиях на термостатируемой качалке при температуре 37 °С в течение 18–24 ч. Полученные культуральные жидкости (КЖ) и их десятикратные разведения (до 10^{-7}) высевали методом микротитрования по 10 мкл, в 3 повторах на агаризованную среду LB. Инкубировали высевы в термостате при температуре 37 °С в течение 18–24 ч, после чего подсчитывали количество выросших колоний для определения КОЕ/мл в неразведенной («исходной») суспензии. В качестве контроля определяли титр клеток в суспензии тест-штаммов, инкубированных в аналогичных условиях, без добавления исследуемых образцов.

Для оценки лечебных свойств меланина *in vivo* получали мази на основе меланина из природного сырья чаги (*Inonotus obliquus*) и мази на основе меланина из глубинной культуры оригинального штамма чаги *Inonotus obliquus* F-1244, полученного в научном центре «Вектор» и депонированного в его музейной коллекции. Из измельченного природного сырья березового гриба (чаги) меланин получали методом щелочного гидролиза [8], а из глубинной культуры *Inonotus obliquus* F-1244 – согласно [10] и лабораторному регламенту на получение меланина на основе штамма *Inonotus obliquus* F-1244 (ЛР 056640012-037-16), разработанному в лаборатории микологии научного центра «Вектор». Полученные пигменты идентифицировали при помощи качественных реакций [5, 8, 10]. Свойства обоих видов указанных меланинов соответствовали предъявляемым требованиям на субстанцию «Меланин чаги» (ЛР 056640012-037-16): внешний вид – порошок темно-коричневого цвета; массовая доля влаги – не более 9.0 ± 1.0 %; водородный показатель 0.001 % раствора pH – 7.5 ± 0.5 ; оптическая плотность 0.001% раствора при длине волны 465 нм – не менее 0.04 ед. оптической плотности.

Для получения 25.0 г меланинсодержащей мази использовали по 50 мг обоих видов меланина, растворенных в 12 мл изотонического рас-

ther, the tubes with cultures and samples were kept in aerated conditions on a shaking bath at a temperature of 37°C for 18–24 h. The obtained culture fluids and their tenfold dilutions (up to 10^{-7}) were plated by microtitering by 10 µl, in 3 repetitions on LB agar medium. The inoculations were incubated in a thermostat at 37°C for 18–24 h, after which the number of grown colonies was calculated to determine CFU/ml in an undiluted (initial) suspension. As a control, the cell titer was determined in a suspension of test strains incubated under similar conditions without adding the test samples.

To assess the health benefits of melanin *in vivo*, ointments based on melanin from natural raw material of chaga (*Inonotus obliquus*) and ointments based on melanin from a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 original strain), obtained at the Vector Research Center and deposited in its museum collection, were obtained. Melanin was obtained from crushed natural raw material of chaga mushroom by alkaline hydrolysis [8], and from the submerged culture of *Inonotus obliquus* F-1244 according to [10] and laboratory regulations for the production of melanin based on the *Inonotus obliquus* F-1244 strain (LR 056640012-037-16), developed in the Laboratory of Mycology of the Vector Research Center. The obtained pigments were identified using qualitative reactions [5, 8, 10]. The properties of both types of these melanins corresponded the requirements for the substance “Chaga Melanin” (LR 056640012-037-16): appearance – dark brown powder; mass fraction of moisture – no more than 9.0 ± 1.0 %; 0.001% solution pH – 7.5 ± 0.5 ; optical density 0.001% solution at a wavelength of 465 nm – at least 0.04 units of optical density.

To obtain 25.0 g of melanin-containing ointment, 50 mg of both types of melanin dissolved in 12 ml of isotonic solution were used. Whereas two formulations of ointment bases were used.

According to the first formulation [18], the ointment bases were obtained at 50–60°C and with thorough mixing 7.0 g of vaseline oil and 3.0 g of T-2 and Twin-60 emulsifiers. The obtained bases were cooled to a temperature of 30–35°C, and solutions of natural and submerged melanins (formulations 1 and 2 respectively) were introduced into them with stirring. The obtained ointments were mixed to a state of homogeneity and packaged. The second formulation of the ointment base also included vaseline, but lanolin was used as an emulsifier. To obtain 25.0 g of ointment, 0.15 g melanin from natural raw material was ground to the impalpable powder in a porcelain mortar, then dissolved in 2.5 ml of saline solution,

твора. При этом мазевые основы использовали двух составов.

Согласно первому составу [18] мазевые основы получали при 50–60 °С и тщательном перемешивании 7.0 г вазелинового масла и по 3.0 г эмульгаторов Т-2 и Твин-60. Полученные основы охлаждали до температуры 30–35 °С и вносили в них при перемешивании растворы природного и «глубинного» меланинов (прописи мазей 1 и 2 соответственно). Полученные мази перемешивали до состояния гомогенности и расфасовывали. Второй состав мазевой основы включал также вазелин, но в качестве эмульгатора использовали ланолин. Для получения 25.0 г мази 0.15 г меланина из природного сырья чаги растирали до мельчайшего порошка в фарфоровой ступке, затем растворяли в 2.5 мл физиологического раствора, добавляли в качестве эмульгатора 2.5 г ланолина, затем 20.0 г вазелина, продолжая при этом растирание смеси в ступке при 50–60 °С до получения гомогенной мази, а затем расфасовывали (пропись мази 3). Полученные меланиновые мази указанных выше трех прописей представляли собой гомогенные темно-коричневого цвета смеси, аналогичные по своей консистенции мазевым лекарственным формам.

В качестве препарата сравнения применяли мазь Левомикон-ТФФ – серия 140718 (ООО «Тулская фармацевтическая фабрика», Россия, срок годности – до 01.2022). Препарат представляет собой однородный желеобразный продукт, используется в качестве комбинированного средства для местного применения. Действующим началом мази являются метилурацил – 4.00 г и хлорамфеникол – 0.75 г. Вспомогательные компоненты: макрогол-1500 – 19.05 г, макрогол-400 – 76.20 г. Мазь оказывает антимикробное действие, прежде всего за счет антибиотика широкого спектра действия хлорамфеникола. Метилурацил обладает анаболической активностью. Оказывает противовоспалительное, иммуностимулирующее, гемопоэтическое, лейкопоэтическое действие. Нормализуя нуклеиновый обмен, стимулирует процессы регенерации в ранах, рост, грануляционное созревание ткани и эпителизацию [19].

В опыте использовали здоровых неинбредных мышей массой тела 17–19 г колонии ICR обоего пола из питомника научного центра «Вектор». Животных распределяли по следующим группам (по 20 мышей в каждой):

- группа 1 – контрольная: мыши, ничем не леченные;

2.5 g of lanolin was added as an emulsifier, then 20.0 g of vaseline, while continuing to paste the mixture in the mortar at 50–60 °С until a homogeneous ointment is obtained, and then packaged (ointment formulation 3). The resulting melanin ointments of the above three prescriptions were homogeneous dark brown mixtures similar in consistency to ointment dosage forms.

Levomikon-TFF ointment (batch 140718) was used as a comparison drug (Tula Pharmaceutical Factory, LLC, Russia, shelf life: up to 01.2022). The preparation is a homogeneous jelly-like product, used as a combined agent for topical application. The active ingredients of the ointment are methyluracil – 4.00 g and chloramphenicol – 0.75 g. Auxiliary components: macrogol-1500 – 19.05 g, macrogol-400 – 76.20 g. The ointment has an antimicrobial effect, primarily due to the broad-spectrum antibiotic agent chloramphenicol. Methyluracil has anabolic activity. It has an anti-inflammatory, immunostimulating, hematopoietic, leukopoietic effect. Normalizing nucleic metabolism, it stimulates regenerative processes in wounds, growth, maturation of granulation tissue and epithelization [19].

In the experiment, healthy non-inbred mice weighing 17–19 g of an ICR colony of both sexes from the nursery of the Vector Research Center were used. The animals were divided into the following groups (20 mice each):

- group 1 – control: untreated mice;
- group 2 – control: mice treated with the comparison drug;
- group 3 – experimental: animals treated with ointment containing melanin from natural raw material of chaga (*Inonotus obliquus*);
- group 4 – experimental: animals treated with ointment with melanin obtained on the basis of the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain);
- group 5 – experimental: animals treated with ointment with a 5-fold increased concentration of melanin from natural raw material of *Inonotus obliquus* compared with ointments for animals of groups 3–4.

After premedication of white mice with chloroform, on the back of the animals a flat incised wound was applied with non-sterile scissors without observing the rules of asepsis. Experimental animals of groups 2–4 were treated daily by applying 0.2 g of Levomikon-TFF ointment to wounds with a spatula (group 2) and 0.2 g of melanin ointment containing 0.4 mg of melanin (groups 3 and 4), for group 5 0.2 g of ointment with 2.0 mg of melanin was used. The treatment of mice was continued until their incised

- группа 2 – контрольная: мыши, леченные препаратом сравнения;
- группа 3 – опытная: животные, леченные мазью с меланином из природного сырья чаги (*Inonotus obliquus*);
- группа 4 – опытная: животные, леченные мазью с меланином, полученным на основе глубокой культуры штамма чаги *Inonotus obliquus* F-1244;
- группа 5 – опытная: животные, леченные мазью с увеличенной в 5 раз концентрацией меланина из природного сырья чаги по сравнению с мазями для животных групп 3–4.

После премедикации белых мышей хлороформом животным на спине наносили нестерильными ножницами без соблюдения правил асептики плоскую резаную рану. Экспериментальных животных групп 2–4 лечили ежедневно путем нанесения на раны шпателем 0.2 г мази Левомикон-ТФФ (группа 2) и по 0.2 г мази с меланином с содержанием в ней 0.4 мг меланина (группы 3 и 4), для группы 5 – 0.2 г мази с 2.0 мг меланина. Лечение мышей продолжали до момента заживления у них резаных ран. Ежедневно у мышей во всех группах оценивали площади ран по методу Л.Н. Поповой [20], двигательную активность, аппетит, динамику и характер заживления ран, а также через каждые трое суток – изменение у них массы тела.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментальной оценки антибиотических свойств меланина из природного сырья и глубокой культуры чаги *in vitro* представлены в табл. 1.

В ходе эксперимента было установлено, что водный экстракт чаги, меланины из природного сырья чаги и ее глубокой культуры штамма *Inonotus obliquus* F-1244 проявили высокую антибиотическую активность в отношении штамма грамположительной спорообразующей бактерии *Bacillus cereus*, полностью подавив ее размножение в совместной культуре. Меланин из природного сырья чаги в среднем на порядок с достоверностью 95 % подавлял рост золотистого стафилококка, штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Водный экстракт из природного сырья чаги и меланин из глубокой культуры штамма чаги *Inonotus obliquus* F-1244 проявили антагонистическую активность в отношении штаммов дрожжей – как коллекционного штамма *Candida albicans* 620, так и клинического изолята штамма *Candida sp.* Ft-5 от умершего больного с генерализованной кандидозной

wounds healed. The wound areas were evaluated daily in mice of all groups using the L.N. Popova method [20], then motor activity, appetite, dynamics and character of wound healing, as well as changes in their body weight were evaluated every three days.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the experimental evaluation of the antibiotic properties of melanin from natural raw material and the submerged culture of chaga *in vitro* are presented in Table 1.

During the experiment, it was found that the aqueous extract of chaga, melanins from natural raw material of chaga and its submerged culture (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) showed high antibiotic activity against the strain of the gram-positive spore-forming bacterium *Bacillus cereus*, completely suppressing its growth in a co-culture. Melanin from natural chaga raw material with 95% confidence suppressed the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain more actively, on average, by an order of magnitude. An aqueous extract from natural chaga raw material and melanin from the submerged culture of the *Inonotus obliquus* F-1244 strain showed antagonistic activity against yeast strains, both the collection *Candida albicans* 620 strain and the clinical isolate of the *Candida sp.* Ft-5 strain from a deceased patient with generalized candida infection. In particular, the first sample reduced the number of viable cells of the *Candida albicans* 620 strain, compared to the control suspension, by an order of magnitude, on average; the second sample – by two orders of magnitude with 95% confidence. It should be particularly noted that the same chaga samples in the conditions of the experiment completely suppressed the growth of the highly pathogenic *Candida sp.* Ft-5 strain. However, samples of melanins isolated both from natural raw material and from the submerged culture of *Inonotus obliquus* F-1244, were expected to be inferior in their antibiotic effect on the studied cultures of test strains than the effect of the antibiotic chloramphenicol, since it has a pronounced bacteriostatic effect on at least 16 types of gram-positive and gram-negative bacteria [19]. Nevertheless, taking into account the experimental data obtained on the antibiotic activity of chaga melanins *in vitro*, as well as literature data on the presence and manifestation *in vivo* of a wide range of useful and positive properties by biologically active substances from higher basidiomycetes, it is possible and promising to include melanins in the composition of experimental ointments.

The results of an *in vivo* experimental evaluation of the therapeutic properties and toxicity of oint-

Таблица 1. Антибиотическая активность меланинов, выделенных из природного сырья чаги и ее глубинной культуры чаги штамма *Inonotus obliquus* F-1244
Table 1. Antibiotic activity of melanins isolated from natural raw material and the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain)

Тест-штаммы микроорганизмов Test strains of microorganisms	Группа патогенности Pathogenicity group	Окраска по Граму Gram staining	Водный экстракт из природного сырья чаги Aqueous extract from natural raw material of chaga	Меланин из природного сырья чаги Melanin from natural raw material of chaga	Меланин из глубинной культуры чаги F-1244 Melanin from the submerged culture of chaga F-1244	Хлорамфеникол Chloramphenicol	Контроль культуры тест-штамма Control of test strain culture
<i>Бактерии / Bacteria</i>							
<i>Salmonella typhimurium</i> 2606	3	-	(1.4 ± 0.4) · 10 ⁹	(1.6 ± 0.3) · 10 ⁹	(1.3 ± 0.3) · 10 ⁹	Нет роста No growth	(1.8 ± 0.5) · 10 ⁹
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	4	+	(3.7 ± 1.1) · 10 ⁶	(1.3 ± 0.4) · 10⁵	(5.9 ± 1.8) · 10 ⁶	Нет роста No growth	(4.0 ± 1.2) · 10 ⁶
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	-	(2.6 ± 0.8) · 10 ⁹	(2.2 ± 0.7) · 10 ⁹	(1.6 ± 0.5) · 10 ⁹	(1.9 ± 0.6) · 10 ⁹	(2.9 ± 0.8) · 10 ⁹
<i>Bacillus cereus</i>	4	+	Нет роста No growth	Нет роста No growth	Нет роста No growth	Нет роста No growth	4.0 · 10 ⁵
<i>Proteus mirabilis</i> 160205	4	-	(3.1 ± 0.9) · 10 ⁹	(3.0 ± 0.8) · 10 ⁹	(2.9 ± 0.8) · 10 ⁹	Нет роста No growth	(3.1 ± 0.9) · 10 ⁹
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 378	4	-	(2.1 ± 0.6) · 10 ⁹	(2.1 ± 0.7) · 10 ⁹	(1.5 ± 0.4) · 10 ⁹	Нет роста No growth	(1.4 ± 0.5) · 10 ⁹
<i>Дрожжи / Yeast</i>							
<i>Candida albicans</i> 620	4	*	(1.7 ± 0.5) · 10⁶	(1.8 ± 0.5) · 10 ⁷	(2.8 ± 0.8) · 10⁵	(2.2 ± 0.5) · 10 ⁷	(3.0 ± 0.9) · 10 ⁷
<i>Candida</i> sp. Ft-5 (клинический образец) (clinical sample)	4	*	Нет роста No growth	(2.4 ± 0.7) · 10 ⁷	Нет роста No growth	(1.0 ± 0.8) · 10 ⁷	(1.6 ± 0.5) · 10 ⁷

П р и м е ч а н и я : Жирным шрифтом выделены показатели подавления с достоверностью 95 % меланинами чаги роста культур тест-штаммов микроорганизмов в сравнении с их значениями для контрольных культур.

* Элементы грибов *Candida* хорошо окрашиваются при использовании широко распространенных методов окраски – по Граму, Романовскому – Гимзе, Цилю – Нильсену, раствором Люголя, метиленовым синим и др., но признаки качественного окрашивания в этом случае не являются основными дифференциально-диагностическими показателями для идентификации этих дрожжей.

N o t e s . The indicators of suppression with 95% confidence of the growth of test strains' cultures of microorganisms in comparison with their values for control cultures by melanins are highlighted in bold.

* Elements of *Candida* fungi are well stained with widely used methods: Gram, Romanovsky-Giemsa, Ziehl-Nielsen, Lugol's solution, methylene blue, etc., but signs of high-quality staining in this case are not the main differential diagnostic indicators for the identification of these yeasts.

инфекцией. В частности, первый образец снизил численность жизнеспособных клеток штамма *Candida albicans* 620 по сравнению с контрольной суспензией в среднем на порядок, второй образец – на два порядка с достоверностью 95 %. Следует особо отметить, что эти же образцы чаги в условиях проведенного опыта полностью подавляли рост высокопатогенного штамма *Candida sp.* Ft-5. Однако образцы меланинов, выделенных как из природного сырья, так и из глубинной культуры чаги *Inonotus obliquus* F-1244, ожидаемо уступали по своему антибиотическому действию на исследованные культуры тест-штаммов воздействию антибиотика хлорамфеникола, поскольку он обладает выраженным бактериостатическим действием в отношении не менее 16 видов грамположительных и грамотрицательных бактерий [19]. Тем не менее с учетом полученных экспериментальных данных по антибиотической активности меланинов чаги *in vitro*, а также данных литературы о наличии и проявлении *in vivo* широкого спектра практически полезных и положительных свойств биологически активными веществами из высших базидиомицетов делают возможным и перспективным включение меланинов в состав опытных мазей.

Результаты экспериментальной оценки *in vivo* лечебных свойств, а также токсичности мазей, содержащих меланины из природного сырья березового гриба (чаги) и глубинной культуры гриба чаги *Inonotus obliquus* F-1244, представлены в табл. 2, 3.

Из данных, представленных в табл. 2, следует, что динамика изменения показателей прироста массы тела у мышей как в экспериментальных группах, так и в контрольных группах животных была положительной. При этом значения этих показателей были очень близкими и не различались с достоверностью 95 % между группами. Имеющиеся различия в абсолютных показателях прироста массы тела у животных, в частности, на третьей сутки и при дальнейшем наблюдении были обусловлены различиями исходных масс тела у мышей, поскольку формирование опытных групп для возможного максимального нивелирования значимости этого показателя в последующем осуществлялось случайным образом без учета массы тела животных. В ходе эксперимента подопытные животные в группах 1 и 2 в течение первых пяти дней выглядели менее активными по сравнению с мышами групп 3–5. Последние охотнее поедали свой корм, более того, после нанесения мази мыши частично съедали мела-

ments containing melanins from natural raw material of chaga mushroom and the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) are presented in Tables 2, 3.

From the data presented in Table 2, it follows that the dynamics of changes in body weight gain in mice in both experimental and control groups of animals was positive. At the same time, the values of these indicators were very close and did not differ with 95% confidence between the groups. The differences in absolute values of body weight gain in animals, in particular, on the third day and further observation were due to differences in the initial body weights in mice, since the formation of experimental groups for the possible maximum leveling of the significance of this indicator was subsequently carried out randomly without taking into account the body weight of animals. During the study, the experimental animals in groups 1 and 2 looked less active during the first five days compared to mice in groups 3–5. The latter were more willing to eat their food, moreover, after applying the ointment, the mice partially ate melanin preparation from each other's wounds. On the 18th day of observation, the body weight gain in mice reached comparable values that did not differ between groups with 95% confidence. Thus, the data obtained indicated the absence of a negative effect of melanin ointments of different formulation on the body of mice.

Dynamics of wound healing in the experimental groups of animals (see Table 3) differed from that in the control groups. Visually, in mice of experimental group 5 treated by ointment with a fivefold increased concentration of melanin from natural chaga, the crusts on the wounds fell off on the 12th day, the wounds scarred; on the surface of scars covered along periphery with growing hair, only traces of crusts of 0.01–0.02 cm² remained. At the same time, in mice of control groups 1 and 2, as well as experimental groups 3 and 4, a similar result of wound healing was obtained only on the 21st day. It should also be noted that from the moment of wounding and for the first few days, the surface of the wounds in animals of all groups was plastered with a significant amount of fine wood chips of bedding. However, this circumstance did not negatively affect the wound healing process in experimental mice. On the 21st day of observation, visually at the site of former wounds in animals of groups 1–4, only traces of crusts ranging in size from 0.01 to 0.03 cm² were noted together with pink scars of regenerated skin, covered along the periphery with growing hair. In addition, it should be noted that in groups 3–4 there was a tendency for faster wound healing (from the

Таблица 2. Динамика показателей прироста массы тела у мышей (г)
Table 2. Dynamics of body weight gain in mice (g)

Группа Group	Сроки наблюдения, сутки / Observation time, days						Общий прирост массы тела мышей от исходной The total increase in body weight of mice as compared with baseline
	3-и / 3rd	6-е / 6th	9-е / 9th	12-е / 12th	15-е / 15th	18-е / 18th	
1 (контрольная / control) (n = 20)	1.7 ± 0.5	2.1 ± 0.6	2.2 ± 0.7	3.3 ± 1.05	2.1 ± 1.3	1.0 ± 1.7	12.4 ± 5.85
2 (контрольная / control) (n = 20)	2.6 ± 0.5	2.7 ± 0.9	0.6 ± 0.9	1.4 ± 1.03	1.3 ± 1.2	1.5 ± 1.7	10.1 ± 6.23
3 (опытная / experimental) (n = 20)	1.2 ± 0.4	3.2 ± 0.6	3.3 ± 0.6	3.3 ± 0.7	1.1 ± 0.5	0.9 ± 1.1	13.0 ± 7.32
4 (опытная / experimental) (n = 20)	1.3 ± 0.6	2.6 ± 0.5	2.7 ± 1.1	3.4 ± 1.1	1.0 ± 0.8	1.1 ± 0.8	12.1 ± 6.12
5 (опытная / experimental) (n = 20)	2.4 ± 0.5	0.7 ± 0.5	2.1 ± 0.7	2.0 ± 0.8	1.4 ± 0.9	2.1 ± 1.0	10.7 ± 4.4

П р и м е ч а н и е . Представлены средние показатели прироста массы тела у мышей с их доверительными интервалами для вероятности 95 % ($\bar{X} \pm p_{0.05}$, где \bar{X} – среднее арифметическое; $p_{0.05}$ – доверительный интервал для вероятности 95 %).

N o t e . Average indicators of body weight gain in mice are shown with their confidence intervals for a 95% probability ($\bar{X} \pm p_{0.05}$, where \bar{X} – the arithmetic mean; $p_{0.05}$ – a confidence interval for a 95% probability).

Таблица 3. Динамика изменения площади ран у мышей (см²)
Table 3. Dynamics of changes in the wound area in mice (cm²)

Группа Group	Сроки наблюдения, сутки / Observation time, days							
	0	3-и / 3rd	6-е / 6th	9-е / 9th	12-е / 12th	15-е / 15th	18-е / 18th	21-е / 21st
1 (контрольная / control) (n = 20)	1.61 ± 0.27	1.15 ± 0.25	0.75 ± 0.22	0.25 ± 0.08	0.25 ± 0.07	0.14 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.01
2 (контрольная / control) (n = 20)	1.43 ± 0.19	1.32 ± 0.17	1.22 ± 0.2	0.94 ± 0.12	0.23 ± 0.05	0.23 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.01
3 (опытная / experimental) (n = 20)	1.57 ± 0.23	1.49 ± 0.18	1.46 ± 0.27	0.64 ± 0.21	0.19 ± 0.08	0.19 ± 0.08	0.04 ± 0.04	0.01 ± 0.01
4 (опытная / experimental) (n = 20)	1.66 ± 0.18	1.95 ± 0.23	1.13 ± 0.21	0.97 ± 0.37	0.30 ± 0.14	0.30 ± 0.17	0.09 ± 0.09	0.03 ± 0.03
5 (опытная / experimental) (n = 20)	1.28 ± 0.16	0.80 ± 0.15	0.46 ± 0.15	0.17 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0	0

П р и м е ч а н и е . Представлены средние показатели площадей ран у мышей с их доверительными интервалами для вероятности 95 % ($\bar{X} \pm p_{0.05}$, где \bar{X} – среднее арифметическое; $p_{0.05}$ – доверительный интервал для вероятности 95 %).

N o t e . Average indicators of the wound area in mice are shown with their confidence intervals for a 95% probability ($\bar{X} \pm p_{0.05}$, where \bar{X} – is the arithmetic mean; $p_{0.05}$ – is a confidence interval for a 95% probability).

ниновую мазь с ран друг у друга. На 18-е сутки наблюдения прирост массы тела по группам у мышей достиг сопоставимых величин, не различавшихся между группами с достоверностью 95 %. Полученные данные, таким образом, свидетельствовали об отсутствии негативного влияния меланиновых мазей разных прописей на организм мышей.

Динамика заживления ран в опытных группах животных (см. табл. 3) по сравнению с контрольными группами различалась. Визуально у мышей опытной группы 5, леченных мазью с пятикратно увеличенной концентрацией меланина из природной чаги, корочки на ранах уже на 12-е сутки отпали, раны зарубцевались, на поверхности рубцов, покрытых по периферии отрастающей шерстью, остались только следы от корочек размерами 0.01–0.02 см². В то же время у мышей контрольных групп 1 и 2, а также опытных групп 3 и 4 аналогичный результат заживления ран был получен только на 21-е сутки. Следует также отметить, что с момента нанесения ран и на протяжении нескольких первых дней поверхность ран у животных всех групп была облеплена значительным количеством мелкой древесной стружки подстилки. Однако это обстоятельство не повлияло отрицательно на процесс заживления ран у подопытных мышей. На 21-е сутки наблюдения визуально на месте бывших ран у животных групп 1–4 отмечались только следы от корочек размерами от 0.01–0.03 см² на фоне розовых рубцов регенерировавшей кожи, покрытые по периферии отрастающей шерстью. Кроме этого, необходимо отметить, что в группах 3–4 была выявлена тенденция более быстрого заживления ран (начиная с 15-х суток наблюдения в группе 3, а в группе 4 – с 18-х суток) по сравнению с животными контрольной группы 2, леченных мазью Левомикон-ТФФ.

Установленная в ходе настоящей работы более высокая эффективность ранозаживления у мышей экспериментальными мазями в сравнении с Левомиконом-ТФФ продемонстрировала как противовоспалительные, так и регенеративные свойства меланина (особенно в прописи мази с пятикратным содержанием меланина), не уступающие таковым у хлорамфеникола и метилурацила, которые являются основой мази сравнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное экспериментальное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Меланины из природного сырья и глубоинной культуры чаги штамма *Inonotus obliquus*

15th day of observation in group 3, and from the 18th day in group 4) compared with animals of control group 2 treated with Levomikon-TFF ointment.

The higher efficiency of wound healing in mice with experimental ointments, in comparison with Levomikon-TFF, established in the course of this work, demonstrated both anti-inflammatory and regenerative properties of melanin (especially in the ointment formulation with a fivefold melanin content), not inferior to those of chloramphenicol and methyluracil, which are the basis of the comparison preparation.

CONCLUSION

The conducted experimental study allows us to draw the following conclusions:

1. Melanins from natural raw material and the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) completely suppressed the growth of gram-positive spore-forming *Bacillus cereus* bacterium in a co-culture. Melanin from natural chaga raw material, on average, suppressed the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain by an order of magnitude more actively. Melanin from the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) completely suppressed the growth of the clinical isolate of the highly pathogenic *Candida* sp. Ft-5 strain from a deceased patient with generalized candida infection, and inhibited the growth of the collection *Candida albicans* 620 yeast strain, on average, by two orders of magnitude more intensively.

2. The components of the ointment bases of the two tested formulations (melanin from natural chaga raw material and melanin obtained on the basis of the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain), as well as an ointment containing a fivefold increased concentration of melanin from natural chaga, have no toxicity to experimental animals.

3. Ointments containing 0.4 mg of melanin from natural raw material and the submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus* F-1244 strain) in 0.2 g of a single dose of ointment had the same wound healing efficacy, while not only were not inferior in wound healing efficacy to the combined antimicrobial comparison drug Levomikon-TFF, but showed a tendency to more accelerated wound healing (on the 15th–18th day of observation) compared with the process of wound regeneration in a group of animals treated with the comparison drug.

4. A more accelerated wound healing effect was demonstrated in experimental animals (already on the 12th day of observation) treated with a fivefold

F-1244 полностью подавляли размножение грамположительной спорообразующей бактерии *Bacillus cereus* в совместной культуре. Меланин из природного сырья чаги в среднем на порядок подавлял рост золотистого стафилококка штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Меланин из глубинной культуры штамма чаги *Inonotus obliquus* F-1244 полностью подавлял рост клинического изолята высокопатогенного штамма *Candida sp.* Ft-5 от умершего больного с генерализованной кандидозной инфекцией и в среднем на два порядка ингибировал рост коллекционного штамма дрожжей *Candida albicans* 620.

2. Компоненты мазевых основ двух прописей испытанных мазей (меланин из природного сырья чаги и меланин, полученный на основе глубинной культуры штамма чаги *Inonotus obliquus* F-1244), а также мазь, содержащая пятикратно увеличенную концентрацию меланина из природной чаги, не обладают токсичностью для экспериментальных животных.

3. Мази, содержащие по 0.4 мг меланина из природного сырья чаги и ее глубинной культуры штамма *Inonotus obliquus* F-1244 в 0.2 г одноразовой дозы мази, обладали одинаковой ранозаживляющей эффективностью, при этом не только не уступали по ранозаживляющей эффективности комбинированному противомикробному препарату сравнения Левомикон-ТФФ, но продемонстрировали тенденцию более ускоренного заживления ран (на 15–18-е сутки наблюде-

increased content of melanin from natural raw material of *Inonotus obliquus* in the ointment formulation, compared with mice treated with the drug of comparison.

Thus, ointments containing melanin of the chaga *Inonotus obliquus* have anti-inflammatory, regenerative properties, and can be considered as promising drugs for topical treatment of wounds.

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

ния) по сравнению с процессом регенерации ран у группы животных, леченных указанным препаратом сравнения.

4. Продемонстрирован более ускоренный эффект заживления ран у экспериментальных животных (уже на 12-е сутки наблюдения), леченных с пятикратно увеличенным содержанием меланина из природного сырья чаги в прописи мази, по сравнению с мышами, лечеными препаратом сравнения.

Таким образом, мази, содержащие меланин чаги, обладают противовоспалительными, регенеративными свойствами и могут рассматриваться в качестве перспективных препаратов для местного лечения ран.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск, 2014. 298 с.
2. Сакович В.В., Жерносеков Д.Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ // Вестн. Полесск. гос. ун-та. 2018;1:3–13.
3. Саерова К.В., Мухтарова А.Р. Извлечение биологически активных компонентов из водного экстракта чаги // Молодежь и наука: шаг к успеху: сб. статей 2-й Всерос. науч. конф. перспективных разработок молодых ученых: в 3 т. Курск, 2018. С. 254–257.
4. Сушинская Н.В., Курченко В.П., Горовой Л.Ф., Сеньюк О.Ф. Получение и использование в медицине меланинов из трутовых грибов // Успехи медицинской микологии. 2005;6:255–259.
5. Кукулянская Т.А., Курченко Н.В., Курченко В.П., Бабицкая В.Г. Физико-химические свойства меланинов, образуемых чагой в природных условиях и при культивировании // Прикладная биохимия и микробиология. 2002;38(1):68–72.
6. Цветкова В.А., Пугач О.А., Андреева И.С., Ставский Е.А., Теплякова Т.В. Определение антибио-

REFERENCES

1. Teplyakova T.V., Kosogova T.A. (2014). *Higher fungi of Western Siberia are Promising Objects for the Biotechnology of Drugs*. Novosibirsk. 298 p. (In Russ.)
2. Sakovich V.V., Zhernossekov D.D. Basidiomycetes as sources of biologically active substances. *Bull. of the Polesky State University*. 2018;1:3–13. (In Russ.)
3. Saerova K.V., Mukhtarova A.R. (2018). Extraction of biologically active components from an aqueous extract of chaga. In *Youth and Science: a Step Towards Success*: collection of articles of the 2nd All-Russia scientific conf. promising developments of young scientists: in 3 vol. (pp. 254–257). Kursk. (In Russ.)
4. Sushinskaya N.V., Kurchenko V.P., Gorovoy L.F., Senyuk O.F. Obtaining and using melanins from polypore fungi in medicine. *Advances in Medical Mycology*. 2005;6:255–259. (In Russ.)
5. Kukulyanskaya T.A., Kurchenko N.V., Kurchenko V.P., Babitskaya V.G. Physicochemical properties of melanins produced by the sterile form of *Innotus obliquus* ("Chagi") in natural and cultivated fungus. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2002;38(1):68–72. doi: 10.1023/A:1013204706055.

- тической активности грибов из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора // Совр. проблемы фитотерапии и травничества: материалы 5-го междунар. съезда фитотерапевтов и травников (Москва, 19–20 января 2019 г.). М.: Русские, 2019. С. 390–394.
7. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Andreeva I., Solovyanova N. The activity of components of true tinder mushroom, chaga *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil. against viruses, bacteria and fungi // 10th International Medicinal Mushroom Conference: abstract (September 19–22, 2019, Nantong, China). P. 11.
 8. Противовирусное средство на основе меланина: Патент RU 2 480 227 С2 / Т.В. Теплякова, Л.И. Пучкова, Т.А. Косогова и др.; ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Оpubл. 27.04.2013. Бюл. № 12. 11 с.
 9. Ильичева Т.Н., Ананько Г.Г., Косогова Т.А. и др. Противовирусная активность меланина из чаги (*Inonotus obliquus*), полученного на основе культивирования штамма F-1244, выделенного в чистую культуру // Химия растительного сырья. 2020;2:283–289. doi: 10.14258/jcprgm.2020025167.
 10. Штамм базидиального гриба *Inonotus obliquus* – продуцент пигмента меланина, обладающего противовирусной и противоопухолевой активностью. Патент RU 2 716 590 С1 / Т.В. Теплякова, Т.А. Косогова, Т.Н. Ильичева и др.; ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Оpubл. 12.03.2020. Бюл. № 8. 13 с.
 11. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Kosogova T.A., Wasser S.P. Medicinal mushrooms against influenza viruses // Int. J. Med. Mushrooms. 2021;23(2):1–11. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2020037460.
 12. Ингибитор репликации коронавируса SARS-CoV-2 на основе водного экстракта гриба *Inonotus obliquus*: Патент RU 2 741 714 С1 / Т.В. Теплякова, О.В. Пьянков, М.О. Скарнович и др.; ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Оpubл. 28.01.2021. Бюл. № 4. 12 с.
 13. Радаева И.Ф., Костина Г.А. Гиалуроновая кислота: очистка, свойства, применение // Биотехнология. 1996;5:44–47.
 14. Гончар А.М., Коган А.С., Салганик Р.И. Раневой процесс и иммобилизованные протеолитические ферменты. Новосибирск, 1986. 118 с.
 15. Сандахчиев Л.С., Ставский Е.А., Зиновьев В.В. и др. Оценка воздействия мази, содержащей коллагеназу камчатского краба, на инфицированную рану в эксперименте // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 1997;124(10):421–424.
 16. Сандахчиев Л.С., Ставский Е.А., Зиновьев В.В. и др. Экспериментальное изучение лечебных свойств и токсичности мази, содержащей коллагеназу камчатского краба // Вестн. РАМН. 1998;4:50–55.
 17. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): Санитарные правила. СП 1.3.3118-13. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2013. 145 с.
 18. Вязовая Е.А., Ананько Г.Г., Теплякова Т.В. Оценка солнцезащитного потенциала грибного меланина, полученного из чаги (*Inonotus obliquus*) // Успехи медицинской микологии. 2018;19:265–272.
 6. Tsvetkova V.A., Pugach O.A., Andreeva I.S., Stavsky E.A., Teplyakova T.V. (2019). Determination of antibiotic activity of fungi from the collection of the Vector Research Center. In *Modern Problems of Phytotherapy and Herbalism: materials of the 5th Int. Congress of Phytotherapists and Herbalists* (Moscow, January 19–20, 2019) (pp. 390–394). Moscow. (In Russ.)
 7. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Andreeva I., Solovyanova N. (2019). The activity of components of true tinder mushroom, chaga *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil. against viruses, bacteria and fungi. In 10th International Medicinal Mushroom Conference: abstract (September 19–22, 2019, Nantong, China (p. 11)).
 8. Teplyakova T.V., Puchkova L.I., Kosogov T.A. et al. Melanin-based antiviral agent: Patent RU 2 480 227 С2. State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector.” Publ. 04/27/2013. Bull. No. 12. 11 p.
 9. Ilyicheva T.N., Ananko G.G., Kosogova T.A. et al. Antiviral activity of the melanin from birch fungus (*Inonotus obliquus*), obtained by cultivating F-1244 strain, isolating to pure culture. *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2020;2:283–289. doi: 10.14258/jcprgm.2020025167. (In Russ.)
 10. Teplyakova T.V., Kosogova T.A., Ilyichev T.N. et al. The strain of the basidiomycete *Inonotus obliquus* is a producer of the melanin pigment, which has antiviral and antitumor activity. Patent RU 2 716 590 С1. State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector.” Publ. 03/12/2020. Bull. No. 8. 13 p.
 11. Teplyakova T.V., Ilyicheva T.N., Kosogova T.A., Wasser S.P. Medicinal mushrooms against influenza viruses. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2021;23(2):1–11. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2020037460.
 12. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Skarnovich M.O. et al. SARS-CoV-2 coronavirus replication inhibitor based on an aqueous extract of fungus *Inonotus obliquus*: Patent RU 2 741 714 С1. State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector.” Publ. 01/28/2021. Bull. No. 4. 12 p.
 13. Radaeva I.F., Kostina G.A. Hyaluronic acid: purification, properties, application. *Biotechnology*. 1996;5:44–47. (In Russ.)
 14. Gonchar A.M., Kogan A.S., Salganik R.I. (1986). *Wound Process and Immobilized Proteolytic Enzymes*. Novosibirsk. 118 p.
 15. Sandakhchiev L.S., Stavsky E.A., Zinoviev V.V. Evaluation of the impact of an ointment containing red crab collagenase on an infected wound in the experiment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1997;124(10):421–424. (In Russ.)
 16. Sandakhchiev L.S., Stavsky E.A., Zinoviev V.V. Experimental study of therapeutic properties and toxicity of an ointment containing red king crab collagenase. *Annals of Russ. Academy of Medical Sciences*. 1998;4:50–55. (In Russ.)
 17. *Safety of Work with Microorganisms of I–II Groups of Pathogenicity (Danger): Sanitary Rules. SP 1.3.3118-13* (2013). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation. 145 p. (In Russ.)
 18. Vyazovaya E.A., Ananko G.G., Teplyakova T.V. Evaluation of the sun protection potential of fungal melanin obtained from chaga (*Inonotus obliquus*). *Advances in Medical Mycology*. 2018;19:265–272. (In Russ.)

19. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. М.: Видаль Рус, 2019, 1200 с.
20. Савченко Ю.П., Федосова С.Р. Методы определения размеров раневой поверхности // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 2007;166(1):102–105.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ставский Евгений Александрович – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии и основ безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Теплякова Тамара Владимировна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией микологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирская область, пос. Кольцово, Россия.

Андреева Ирина Сергеевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирская область, пос. Кольцово, Россия.

Давыдова Екатерина Сергеевна – студентка 6-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Ставская Анастасия Александровна – студентка 4-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Потешкина Алевтина Леонидовна – старший лаборант лаборатории микологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирская область, пос. Кольцово, Россия.

19. *The Vidal Handbook. Medicines in Russia* (2019). Moscow: Vidal Rus. 1200 p. (In Russ.)
20. Savchenko Yu.P., Fedosova S.R. Methods for determination of sizes of the wound surface. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2007;166(1):102–105. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniy A. Stavsky – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Normal Physiology and Fundamentals of Life Safety, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Tamara V. Teplyakova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of Mycology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Novosibirsk Region, Koltsovo village, Russia.

Irina S. Andreeva – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Department of Biophysics and Ecological Research, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Novosibirsk Region, Koltsovo village, Russia.

Ekaterina S. Davydova – 6th-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Anastasia A. Stavskaya – 4th-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Alevtina L. Poteshkina – Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Mycology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Novosibirsk Region, Koltsovo village, Russia.



Противовоспалительное и анальгетическое действие ингибитора индуцируемой синтазы оксида азота в эксперименте

В.С. Мотов^{1,2}, В.В. Быков^{1,2}, А.В. Быкова², А.И. Венгеровский¹

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

²ООО «Инновационные фармакологические разработки», Томск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Оксид азота играет ключевую роль в развитии воспаления. В связи с этим перспективно создание лекарственного средства, снижающего продукцию оксида азота в очаге воспаления.

Ц е л ь . Изучить в эксперименте противовоспалительное и анальгетическое действие ингибитора индуцируемой синтазы оксида азота производного аминоксиданидина (шифр – LIS-M).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Соединение LIS-M в 1% водном растворе поливинилпирролидона вводили внутримышечно в дозах 5, 10 и 20 мг/кг 150 крысам-самцам линии Sprague Dawley и 50 мышам-самцам линии CD-1 с экспериментальными моделями воспаления и боли. Животные группы сравнения получали диклофенак в дозе 10 мг/кг, животные группы контроля – 1% водный раствор поливинилпирролидона в эквивалентном объеме. Оценивали влияние соединения LIS-M на течение экспериментальной патологии и его анальгетическое потенциальное ulcerогенное действие.

Р е з у л ь т а т ы . У крыс-самцов линии Sprague Dawley соединение LIS-M уменьшает острое экссудативное воспаление, вызванное инъекцией под плантарный апоневроз каррагинина, гистамина или серотонина, тормозит пролиферацию грануляционной ткани и экссудацию вокруг имплантированного под кожу ватного тампона, не оказывает ulcerогенного действия. У мышей-самцов линии CD-1 ослабляет болевую реакцию и увеличивает время до ее наступления.

З а к л ю ч е н и е . Соединение LIS-M в диапазоне доз 5–20 мг/кг оказывает выраженное антиэкссудативное, антипролиферативное и анальгетическое действие, не уступая действию диклофенака в дозе 10 мг/кг, и не оказывает ulcerогенного действия.

Ключевые слова: производное аминоксиданидина, индуцируемая форма синтазы оксида азота, воспаление, боль, ulcerогенное действие.

Образец цитирования: Мотов В.С., Быков В.В., Быкова А.В., Венгеровский А.И. Противовоспалительное и анальгетическое действие ингибитора индуцируемой синтазы оксида азота в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):106–115. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-106-115

Anti-inflammatory and analgesic activity of an inducible NO synthase inhibitor in an experiment

V.S. Motov^{1,2}, V.V. Bykov^{1,2}, A.V. Bykova², A.I. Vengerovskii¹

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

²Innovative Pharmacological Research, LLC, Tomsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Nitric oxide plays a key role in the development of inflammation. In this regard, it is promising to create a drug that reduces the production of nitric oxide in the focus of inflammation.

Поступила в редакцию 01.09.2021
Прошла рецензирование 12.10.2021
Принята к публикации 01.11.2021

Автор, ответственный за переписку
Мотов Валерий Сергеевич: ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.
E-mail: preclin13_dep@iphar.ru

Received 01.09.2021
Revised 12.10.2021
Accepted 01.11.2021

Corresponding author
Valeriy S. Motov: Siberian State Medical University, 2, Moskovsky Trakt, Tomsk, 634050, Russia.
E-mail: preclin13_dep@iphar.ru

A i m . To study experimentally the anti-inflammatory and analgesic effects of an inducible nitric oxide synthase inhibitor of an aminoguanidine derivative (LIS-M).

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The compound LIS-M in 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone was administered intramuscularly at doses of 5, 10 and 20 mg/kg to 150 male Sprague Dawley rats and 50 male CD-1 mice with experimental models of inflammation and pain. The animals of the comparison group received diclofenac at a dose of 10 mg/kg, the animals of the control group received 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone in an equivalent volume. The effect of the LIS-M compound on the course of experimental pathology and its analgesic potential ulcerogenic effect were evaluated.

R e s u l t s . In male Sprague Dawley rats, the LIS-M compound reduces acute exudative inflammation caused by injection of carrageenan, histamine or serotonin in plantar aponeurosis, inhibits the proliferation of granulation tissue and exudation around a cotton swab implanted under the skin, does not have an ulcerogenic effect. In male CD-1 mice, it weakens the pain reaction and increases the time before it occurs.

C o n c l u s i o n . The LIS-M compound at doses ranging from of 5 to 20 mg/kg has a pronounced antiexudative, antiproliferative and analgesic effect, not inferior to the action of diclofenac at a dose of 10 mg/kg, and does not have an ulcerogenic effect.

Keywords: aminoguanidine derivative, inducible nitric oxide synthase, inflammation, pain, ulcerogenic action.

Citation example: Motov V.S., Bykov V.V., Bykova A.V., Vengerovskii A.I. Anti-inflammatory and analgesic activity of an inducible NO synthase inhibitor in an experiment. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):106–115. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-106-115

ВВЕДЕНИЕ

Оксид азота (NO) участвует во многих физиологических и патологических процессах. Он образуется в эндотелии сосудов в реакциях, катализируемых конституциональным и индуцируемым изоферментами синтазы NO [1]. Конституциональный NO расширяет сосуды, улучшает кровоснабжение органов, тормозит агрегацию тромбоцитов, оказывает противоатеросклеротическое и гастропротективное действие, участвует в синаптической передаче [2]. В очаге воспаления NO синтезируется в большом количестве под влиянием индуцируемого кальцийнезависимого изофермента синтазы NO (iNOS). Его активаторами служат интерферон γ , интерлейкин-6, фактор некроза опухоли α , липополисахариды бактерий [3]. NO активирует синтез провоспалительных цитокинов, оказывает цитотоксическое действие, усиливает экссудацию и пролиферацию соединительной ткани [4].

Для лечения воспалительных заболеваний перспективно создание нестероидного противовоспалительного средства (НПВС), способного уменьшать активность iNOS без влияния на ее конституциональную форму. Предполагается, что такое средство может подавлять воспалительную реакцию без нежелательного влияния на сердечно-сосудистую систему и ulcerогенного действия. Как известно, большинство современных НПВС не лишены этих опасных побочных эффектов [5]. В ООО «Инновационные фармакологические разработки» (Россия, Томск) синтезировано соединение LIS-M – производное

INTRODUCTION

Nitric oxide (NO) is involved in many physiological and pathological processes. It is formed in the vascular endothelium in reactions catalyzed by constitutive and inducible NO synthase isoforms [1]. Constitutive NO dilates blood vessels, improves blood supply to organs, inhibits platelet aggregation, has anti-atherosclerotic and gastroprotective effects, participates in synaptic transmission [2]. In the focus of inflammation, large amount of NO is synthesized under the influence of calcium-independent inducible NO synthase (iNOS) isoform. Its activators are interferon γ , interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, lipopolysaccharides of bacteria [3]. NO activates the synthesis of pro-inflammatory cytokines, has a cytotoxic effect, enhances exudation and proliferation of connective tissue [4].

For the treatment of inflammatory diseases, the creation of a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), capable of reducing the activity of iNOS without affecting its constitutional form, is promising. It is assumed that such a remedy can suppress the inflammatory reaction without adverse effects on the cardiovascular system and ulcerogenic action. As it is known, most modern NSAIDs are not free from these dangerous side effects [5]. A compound LIS-M, a derivative of the selective iNOS inhibitor aminoguanidine, was synthesized in Innovative Pharmacological Research, LLC (Tomsk, Russia). The selective action of LIS-M on iNOS is provided by the radical of nitrophenyl aminoindole [6]. In previous experiments, the iNOS concentration was measured by the enzyme immunoassay (Cloud-Clone Corp. Kit, USA)

селективного ингибитора iNOS аминоксанидина. Селективное действие LIS-M на iNOS обеспечивает радикал нитрофениламиноиндола [6]. В ранее проведенных экспериментах иммуноферментным методом (набор Cloud-Clone Corp., США) измеряли концентрацию iNOS и радиометрическим методом (набор Cayman Chemical Company, США) – активность конституциональных форм фермента. Соединение LIS-M ингибировало только iNOS [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить в эксперименте влияние ингибитора iNOS производного аминоксанидина на воспаление и боль.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Производное аминоксанидина LIS-M представляет собой ({[3-(4-нитрофениламино)индол-2-ил]метилени}амино)гуанидина метансульфонат (рис. 1). Средняя летальная доза LD₅₀ LIS-M при внутримышечном введении составляет для крыс-самцов 382.6 мг/кг, для мышей-самцов – 200 мг/кг.

Эксперименты проводили в испытательном центре ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар») на 150 крысах-самцах линии Sprague Dawley массой тела 230–250 г и 50 мышках-самцах линии CD-1 массой тела 25–27 г. Животных получали из отделения свободных от патогенной микрофлоры лабораторных животных ООО «Ифар», содержали в стандартных пластиковых клетках по 6 крыс и 10 мышей при температуре 18–26 °С, относительной влажности воздуха 45–65 %, воздухообмене 10–11 объемов/ч и регулируемом световом режиме (12:12 ч). Исследование одобрено этическими комитетами Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 5591 от 23.10.2017) и ООО «Ифар» (протокол № 31/2020 от 04.02.2020), проведено в соответствии с положениями Европейской конвенции

and the activity of the constitutional forms of the enzyme was measured by the radiometric method (Cayman Chemical Company Kit, USA). The LIS-M compound inhibited only iNOS [7].

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of an iNOS inhibitor of an aminoguanidine derivative on inflammation and pain experimentally.

MATERIALS AND METHODS

The aminoguanidine derivative LIS-M is ({[3-(4-nitrophenyl amino)indole-2-yl]methylene} amino)guanidine methanesulfonate (Fig. 1). The average lethal dose (LD₅₀) of LIS-M with intramuscular administration is 382.6 mg/kg for male rats, 200 mg/kg for male mice.

The experiments were carried out in the testing center of Innovative Pharmacology Research, LLC (IPhar, LLC) on 150 male Sprague Dawley rats weighing 230–250 g and 50 male CD-1 mice weighing 25–27 g. The animals were obtained from the Department of specific pathogen free (SPF) laboratory animals of IPhar, LLC, kept in standard plastic cages (6 rats and 10 mice per cage) at a temperature of 18–26 °C, relative humidity of 45–65%, air exchange of 10–11 volumes/h and adjustable light mode (12:12 h). The study was approved by the ethical committees of the Siberian State Medical University (Protocol No. 5591 of 23.10.2017) and IPhar, LLC (Protocol No. 31/2020 of 04.02.2020), conducted in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Laboratory Animals (Strasbourg, 1986) and in compliance with the principles and the Rules of Good Laboratory Practice (GOST 33044-2014, Order of the Ministry of Health of Russia dated 01.04.2016 No. 199n).

Rats and mice were intramuscularly injected with the compound LIS-M at doses of 5, 10 and 20 mg/kg in 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone or

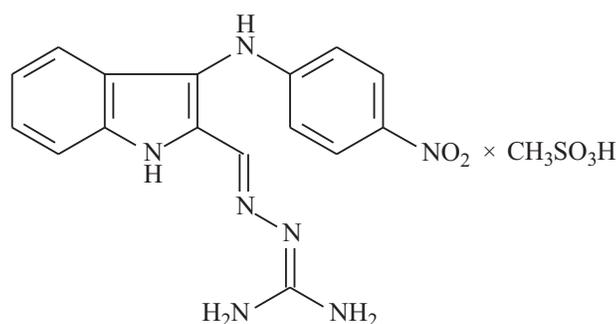


Рис. 1. Структурная формула LIS-M
Fig. 1. LIS-M structural formula

по защите лабораторных животных (Страсбург, 1986) и с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044-2014, приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н).

Крысам и мышам внутримышечно вводили в 1% водном растворе поливинилпирролидона соединение LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг или препарат сравнения диклофенак (Sandoz, Германия) в дозе 10 мг/кг [8]. Контрольные животные получали 1% водный раствор поливинилпирролидона в эквивалентном объеме.

Для оценки влияния веществ на разные виды острог эксудативного воспаления через 0.5 ч после однократной внутримышечной инъекции соединения LIS-M или диклофенака под плантарный апоневроз задней конечности крыс вводили каррагинин (20 мг/мл), гистамин (20 мг/мл) или серотонин (0.1 мг/мл) в водных растворах (все Sigma-Aldrich, США). В другую конечность вводили изотонический раствор натрия хлорида в том же объеме. Величину отека оценивали при помощи плетизмометра (Ugo Basile, Италия) как разницу между объемами задних конечностей через 4 ч после введения каррагинина или через 0.5 ч после введения гистамина и серотонина [9, 10].

Для моделирования хронического пролиферативного воспаления крысам под легким наркозом севофлураном в асептических условиях имплантировали под кожу спины два стерильных ватных тампона массой 10 мг каждый. В течение 7 сут 1 раз в сутки внутримышечно вводили соединение LIS-M в дозах 5, 10, 20 мг/кг или диклофенак в дозе 10 мг/кг. На 8-е сутки после операции животных выводили из эксперимента в камере, постепенно заполняемой углекислым газом, извлекали тампоны с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью, взвешивали, высушивали в термостате до постоянной массы и повторно взвешивали. Проллиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой тампона, эксудативную – по разнице между массой сырой и высушенной гранулем [10].

Анальгетический эффект оценивали у мышей по влиянию на сокращения брюшных мышц («корчи»), вызванные внутрибрюшинной инъекцией 0.75% раствора уксусной кислоты в объеме 0.1 мл/10 г массы тела животного. За 8 ч до инъекции раздражителя вводили однократно внутримышечно вещество LIS-M или диклофенак. В течение последующих 15 мин для каждого

the comparison drug diclofenac (Sandoz, Germany) at a dose of 10 mg/kg [8]. Control animals received 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone in an equivalent volume.

To assess the effect of substances on various types of acute exudative inflammation, 0.5 h after a single intramuscular injection of the compound LIS-M or diclofenac, carrageenan (20 mg/ml), histamine (20 mg/ml) or serotonin (0.1 mg/ml) in aqueous solution (all Sigma-Aldrich, USA) were administered under plantar aponeurosis of the hind limb of rats. Normal saline was injected into the other limb in the same volume. The volume of edema was assessed using a plethysmometer (Ugo Basile, Italy) as the difference between the volumes of the hind limbs 4 h after the administration of carrageenan or 0.5 h after the injection of histamine and serotonin [9, 10].

To simulate chronic proliferative inflammation, two sterile cotton swabs each weighing 10 mg were aseptically implanted under the skin of the back of rats under light anesthesia with sevoflurane. For 7 days, the LIS-M compound was administered intramuscularly once a day at doses of 5, 10, 20 mg/kg or diclofenac at a dose of 10 mg/kg. On the 8th day after the operation, the animals were sacrificed in a chamber gradually filled with carbon dioxide; swabs with granulation tissue were removed, weighed, dried in a thermostat to a constant mass and re-weighed. The proliferative reaction was evaluated by the difference between the mass of the dried granuloma and the initial mass of the swab, the exudative reaction was evaluated by the difference between the mass of the raw and dried granulomas [10].

The analgesic effect was evaluated in mice by the effect on abdominal muscle contractions (writhing test) caused by intraperitoneal injection of 0.75% acetic acid solution in a volume of 0.1 ml/10 g of animal body weight. LIS-M or diclofenac was administered once intramuscularly 8 h before the injection of the irritant. During the next 15 min, the number of cramps was counted for each animal and the time before the first cramp was recorded [10].

To study the potential ulcerogenic effect, the compound LIS-M (5, 10, 20 mg/kg) or diclofenac (10 mg/kg) was administered intramuscularly to rats 4 times with an interval of 24 h. Three hours after the last administration, the animals were sacrificed in an atmosphere of carbon dioxide. The gastric mucosa was examined using a stereoscopic microscope (Observation Devices, LLC, Russia) at magnification $\times 10$, the degree of mucosal lesion was assessed on a four-point scale [10].

животного подсчитывали число «корчей» и регистрировали время до наступления первой «корчи» [10].

Для исследования потенциального ulcerогенного действия соединения LIS-M (5, 10, 20 мг/кг) или диклофенак (10 мг/кг) вводили крысам внутримышечно 4 раза с интервалом 24 ч. Через 3 ч после последнего введения животных выводили из эксперимента в атмосфере углекислого газа. Слизистую оболочку желудка исследовали с помощью стереоскопического микроскопа (ООО «Наблюдательные приборы», Россия) при увеличении $\times 10$, степень поражения слизистой оболочки оценивали по четырехбалльной шкале [10].

Нормальность распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Установлено нормальное распределение данных, поэтому достоверность различий ($p < 0.05$) между группами определяли с помощью t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Каррагенин, гистамин и серотонин вызывали отек конечности крыс. После инъекции каррагенина объем воспаленной конечности возрастал на 88 %, под влиянием гистамина – на 41 %, серотонина – на 84 % (табл. 1). Производное аминогуанидина LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг после однократной внутримышечной инъекции стати-

The normality of the data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test. The normal distribution of data was established, so significance of the difference ($p < 0.05$) between the groups was determined using Student's t test.

RESULTS AND DISCUSSION

Carrageenan, histamine and serotonin caused edema of the rats' limbs. After injection of carrageenan, the volume of the inflamed limb increased by 88%, after histamine injection – by 41%, after serotonin injection – by 84% (Table 1). The derivative of aminoguanidine LIS-M at doses of 5, 10 and 20 mg/kg after a single intramuscular injection statistically significantly decreased the edema of the rats' limb: in the experiment with carrageenan by 30, 58 and 67% respectively, with administration of histamine – by 44, 52 and 71%, serotonin – by 23, 25 and 29 %. Diclofenac at a dose of 10 mg/kg reduced the exudative reaction by 62%. When carrageenan and histamine were administered, the LIS-M compound showed the greatest antiexudative effect at a dose of 20 mg/kg, when carrageenan was injected, it was 15% more pronounced than that of diclofenac at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$); in experiments with histamine and serotonin administration, the effects of these substances were comparable. The severity of serotonin-induced edema was significantly greater than with the action of other inflammatory agents, and the anti-inflammatory effect of LIS-M and diclof-

Таблица 1. Противовоспалительное действие производного аминогуанидина LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и диклофенака в дозе 10 мг/кг на моделях острого экссудативного воспаления

Table 1. Anti-inflammatory effect of the aminoguanidine derivative LIS-M at doses of 5, 10 and 20 mg/kg and diclofenac at a dose of 10 mg/kg on models of acute exudative inflammation

Условия эксперимента Experimental conditions	Каррагенин / Carrageenan		Гистамин / Histamine		Серотонин / Serotonin	
	величина отека, мл edema volume, ml	%	величина отека, мл edema volume, ml	%	величина отека, мл edema volume, ml	%
1% водный раствор поливинилпирролидона (контроль) 1% polyvinylpyrrolidone aqueous solution (control)	0.54 ± 0.08	100	0.37 ± 0.01	100	0.90 ± 0.04	100
LIS-M, 5 мг/кг (mg/kg)	0.38 ± 0.06 ¹	70	0.21 ± 0.03 ¹	56	0.70 ± 0.07 ¹	77
LIS-M, 10 мг/кг (mg/kg)	0.23 ± 0.03 ^{1,2}	42	0.18 ± 0.03 ¹	48	0.68 ± 0.05 ¹	75
LIS-M, 20 мг/кг (mg/kg)	0.18 ± 0.02 ^{1,2,3,4}	33	0.10 ± 0.03 ^{1,2,3}	29	0.64 ± 0.07 ¹	71
Диклофенак, 10 мг/кг Diclofenac, 10 mg/kg	0.26 ± 0.03 ^{1,2}	48	0.12 ± 0.03 ^{1,2,3}	32	0.67 ± 0.07 ¹	74

Примечание. Значимые отличия показателей: ¹ – по сравнению с показателем контрольной группы ($p < 0.05$), ² – по сравнению с показателем при введении LIS-M в дозе 5 мг/кг ($p < 0.05$), ³ – по сравнению с показателем при введении LIS-M в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$), ⁴ – по сравнению с показателем при введении диклофенака в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$).

Note. Significant differences in values: ¹ – compared with the indicator of the control group ($p < 0.05$), ² – compared with the indicator for LIS-M administration at a dose of 5 mg/kg ($p < 0.05$), ³ – compared with the indicator for LIS-M administration at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$), ⁴ – compared with the indicator for diclofenac administration at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$).

стически достоверно ослабляло отек конечности крыс: в эксперименте с каррагенином соответственно на 30, 58 и 67 %, при введении гистамина – на 44, 52 и 71 %, серотонина – на 23, 25 и 29 %. Диклофенак в дозе 10 мг/кг уменьшал экссудативную реакцию на 62 %. При введении каррагенина и гистамина соединение LIS-M проявляло наибольший антиэкссудативный эффект в дозе 20 мг/кг, при инъекции каррагенина он был на 15 % более выражен, чем действие диклофенака в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$), в экспериментах с введением гистамина и серотонина эффекты этих веществ были сопоставимы. Выраженность отека, вызванного серотонином, была значительно больше, чем при действии других воспалительных агентов, а противовоспалительный эффект LIS-M и диклофенака оказался слабее. Эффекты LIS-M в тесте с серотонином не зависели от дозы, что обусловлено меньшей ролью NO при данной модели воспаления.

Имплантация ватных тампонов под кожу крысам сопровождалась образованием вокруг них неспецифической неиммунной гранулемы. Производное амингуанидина LIS-M в дозе 5 мг/кг не влияло на пролиферацию грануляционной ткани и экссудацию, в дозе 10 мг/кг достоверно уменьшало экссудацию, в дозе 20 мг/кг ослабляло экссудацию и пролиферацию не слабее диклофенака в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$) (табл. 2).

Укусная кислота в 0.75% водном растворе при внутрибрюшинном введении вызвала у мышей висцеральную боль в виде сокращений брюшных мышц («корчи») [11]. Соединение LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг уменьшало количе-

енас was weaker. The effects of LIS-M in the serotonin test were dose-independent, due to the lesser role of NO in this model of inflammation.

Implantation of cotton swabs under the skin of rats was accompanied by the formation of a non-specific non-immune granuloma around them. The aminoguanidine derivative LIS-M at a dose of 5 mg/kg did not affect granulation tissue proliferation and exudation, at a dose of 10 mg/kg significantly reduced exudation, at a dose of 20 mg/kg reduced exudation and proliferation not less than diclofenac at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$) (Table 2).

Intraperitoneal injection of 0.75% aqueous solution of acetic acid caused visceral pain in mice in the form of abdominal muscle contractions (writhing) [11]. The LIS-M compound at doses of 5, 10 and 20 mg/kg reduced the number of cramps by 44, 50 and 81% respectively, when administered at a dose of 20 mg/kg, the time before the onset of the first cramp was extended by 98%, when administered at doses of 5 and 10 mg/kg, it did not change. Diclofenac at a dose of 10 mg/kg reduced the number of writhes by 63% and delayed the onset of the first one by 89%. The average effective dose (ED_{50}) of LIS-M in this test was 7 mg/kg (Table 3).

The LIS-M compound, when administered four times intramuscularly to rats at doses of 5, 10 and 20 mg/kg, did not exert an ulcerogenic action (0 points). Diclofenac at a dose of 10 mg/kg caused multiple lesions – pinpoint ulcers, erosions, multiple hemorrhages (2.5 ± 0.5 points).

NO is involved in the development of inflammation caused by carrageenan, histamine and serotonin. Carrageenan binds to toll-like receptors and,

Таблица 2. Противовоспалительное действие производного амингуанидина LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и диклофенака в дозе 10 мг/кг на модели хронического пролиферативного воспаления

Table 2. Anti-inflammatory effect of the aminoguanidine derivative LIS-M at doses of 5, 10 and 20 mg/kg and diclofenac at a dose of 10 mg/kg on a model of chronic proliferative inflammation

Условия эксперимента Experimental conditions	Масса экссудата, мг Mass of exudate, mg	Масса грануляционной ткани, мг Granulation tissue mass, mg
1% водный раствор поливинилпирролидона (контроль) 1% polyvinylpyrrolidone aqueous solution (control)	83 ± 8	19.1 ± 1.5
LIS-M, 5 мг/кг (mg/kg)	82 ± 4	18.8 ± 1.4
LIS-M, 10 мг/кг (mg/kg)	75 ± 5 ^{1,2}	18.0 ± 1.8
LIS-M, 20 мг/кг (mg/kg)	68 ± 4 ^{1,2}	14.0 ± 1.1 ^{1,2,3}
Диклофенак, 10 мг/кг Diclofenac, 10 mg/kg	60 ± 4 ^{1,2,3}	13.8 ± 1.5 ^{1,2,3}

Примечание. Значимые отличия показателей: ¹ – по сравнению с показателем контрольной группы ($p < 0.05$), ² – по сравнению с показателем при введении LIS-M в дозе 5 мг/кг ($p < 0.05$), ³ – по сравнению с показателем при введении LIS-M в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$).

Note. Significant differences in values: ¹ – compared with the indicator of the control group ($p < 0.05$), ² – with the indicator for LIS-M administration at a dose of 5 mg/kg ($p < 0.05$), ³ – with the indicator for LIS-M administration at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$).

ство «корчей» на 44, 50 и 81 % соответственно, при введении в дозе 20 мг/кг время до наступления первой «корчи» удлинялось на 98 %, при введении в дозах 5 и 10 мг/кг – не изменялось. Диклофенак в дозе 10 мг/кг уменьшал количество «корчей» на 63 % и отодвигал наступление первой «корчи» на 89 %. Средняя эффективная доза ($ЭД_{50}$) LIS-M в этом тесте составляла 7 мг/кг (табл. 3).

Соединение LIS-M при четырехкратном внутримышечном введении крысам в дозах 5, 10 и 20 мг/кг не оказывало ulcerогенного действия (0 баллов). Диклофенак в дозе 10 мг/кг вызывал множественные повреждения – точечные язвы, эрозии, множественные кровоизлияния (2.5 ± 0.5 балла).

В развитии воспаления, вызванного каррагенином, гистамином и серотонином, участвует NO. Каррагенин связывается с толл-подобными рецепторами и при участии цитозольных киназ и ядерного фактора κB активирует iNOS с усилением синтеза NO [12]. Гистамин как агонист H_1 -рецепторов активирует фосфолипазу C, продукцию диацилглицерола и инозитол-3-фосфата. Вторичные мессенджеры активируют протеинкиназу C_β и ядерный фактор κB , что становится стимулом к индукции iNOS и синтезу NO [13]. Серотонин при участии $5-HT_2$ -рецепторов повышает активность индукторов iNOS – фосфолипазы A и митоген-активируемых протеинкиназ [14]. Ингибирование iNOS с помощью LIS-M уменьшает синтез NO, что снижает экссудацию в очаге воспаления.

Оксид азота также оказывает влияние на процесс образования гранулемы вокруг инертного инородного тела. Преимущественно антиэкску-

with the participation of cytosolic kinases and nuclear factor- κB , activates iNOS, increasing synthesis of NO [12]. Histamine as an H_1 receptors agonist activates phospholipase C, the production of diacylglycerol and inositol-3-phosphate. Secondary messengers activate protein kinase C_β and nuclear factor- κB , which becomes a stimulus for the iNOS induction and NO synthesis [13]. Serotonin, with the participation of $5-HT_2$ receptors, upregulates the iNOS inductors – phospholipase A and mitogen-activated protein kinases [14]. Inhibition of iNOS by LIS-M reduces the synthesis of NO, which decreases exudation in the focus of inflammation.

Nitric oxide also influences the formation of granuloma around an inert foreign body. The predominantly antiexudative effect of the aminoguanidine derivative LIS-M is due to the dose-dependent effect of NO on the processes of granulation tissue proliferation. In low concentrations, NO inhibits mitosis and enhances fibroblast apoptosis [15], in high concentrations, it enhances fibrosis, promoting the production of cytokines that control the synthesis of growth factors and colony-stimulating factors [16, 17].

The analgesic effect of the LIS-M compound is due to iNOS inhibition and suppression of NO production [11, 18]. NO sensitizes neurons conducting pain signals, enhances glutamatergic synaptic transmission and decreases the sensitivity of kappa-opioid receptors to endogenous opioid peptides [18].

Thus, the selective iNOS inhibitor, the aminoguanidine derivative LIS-M, has an antiexudative and antiproliferative effect without typical side effect of NSAIDs – ulcerogenicity.

Таблица 3. Анальгетическая активность производного аминоксантидина LIS-M в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и диклофенака в дозе 10 мг/кг на модели гипералгезии, вызванной инъекцией уксусной кислоты
Table 3. Analgesic activity of the aminoguanidine derivative LIS-M at doses of 5, 10 and 20 mg/kg and diclofenac at a dose of 10 mg/kg on a model of acetic acid-induced hyperalgesia

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество «корчей» Number of cramps	Время до наступления первой корчи, мин Time before the onset of the first cramp, min
1% водный раствор поливинилпирролидона 1% polyvinylpyrrolidone aqueous solution	16 ± 4	4.4 ± 1.3
LIS-M, 5 мг/кг (mg/kg)	9 ± 2^1	4.4 ± 1.2
LIS-M, 10 мг/кг (mg/kg)	8 ± 3^1	4.5 ± 1.6
LIS-M, 20 мг/кг (mg/kg)	$3 \pm 1^{1,2}$	8.7 ± 1.5^1
Диклофенак, 10 мг/кг Diclofenac, 10 mg/kg	6 ± 2^1	8.3 ± 1.4^1

Примечание. Значимые отличия показателей: ¹ – по сравнению с показателем контрольной группы ($p < 0.05$), ² – по сравнению с показателем у животных, получавших диклофенак ($p < 0.05$).

Note. Significant differences in values: ¹ – compared with the indicator of the control group ($p < 0.05$), ² – with the indicator in animals treated with diclofenac administration ($p < 0.05$).

дательное действие производного аминоксидина LIS-M обусловлено дозозависимым влиянием NO на процессы пролиферации грануляционной ткани. В малой концентрации NO тормозит митозы и усиливает апоптоз фибробластов [15], в высокой концентрации усиливает фиброз, способствуя продукции цитокинов, контролируемых синтезом факторов роста и колониестимулирующих факторов [16, 17].

Анальгетическое влияние соединения LIS-M обусловлено ингибированием iNOS и торможением продукции NO [11, 18]. NO сенсibiliзирует нейроны, проводящие болевой сигнал, усиливает глутаматергическую синаптическую передачу и ослабляет чувствительность опиоидных κ-рецепторов к эндогенным опиоидным пептидам [18].

Таким образом, селективный ингибитор iNOS, производное аминоксидина LIS-M, оказывает антиэкссудативное и антипролиферативное действие без типичного побочного эффекта НПВС – язвочероженного влияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. На модели острого экссудативного воспаления, вызванного инъекцией под плантарный апоневроз крыс каррагенина, гистамина и серотонина, производное аминоксидина LIS-M при однократном внутримышечном введении в дозах 5, 10 и 20 мг/кг проявляет выраженное антиэкссудативное действие. Противовоспалительное действие LIS-M в дозе 20 мг/кг сопоставимо с эффектом диклофенака в дозе 10 мг/кг.

2. На модели хронического пролиферативного воспаления соединение LIS-M при внутримышечном введении в дозах 5, 10 и 20 мг/кг проявляет значительное антиэкссудативное и менее выраженное антипролиферативное действие.

3. На модели острой висцеральной боли анальгетическая активность соединения LIS-M

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lambden S. Bench to bedside review: therapeutic modulation of nitric oxide in sepsis – an update // *Intensive Care Med. Exp.* 2019;7(1):64. doi: 10.1186/s40635-019-0274-x.
2. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // *Совр. проблемы науки и образования.* 2015;4:4621.
3. Kopincová J., Puzserová A., Bernátová I. Biochemical aspects of nitric oxide synthase feedback regulation by nitric oxide // *Interdiscip. Toxicol.* 2011;4(2):63–68. doi: 10.2478/v10102-011-0012-z.

CONCLUSION

The research allows us to draw the following conclusions:

1. In the rat model of acute exudative inflammation caused by subplantar injection of carrageenan, histamine and serotonin, the aminoguanidine derivative LIS-M with a single intramuscular injection at doses of 5, 10 and 20 mg/kg showed a pronounced antiexudative effect. The anti-inflammatory effect of LIS-M at a dose of 20 mg/kg is comparable to the effect of diclofenac at a dose of 10 mg/kg.

2. In the model of chronic proliferative inflammation, the LIS-M compound, when administered intramuscularly at doses of 5, 10 and 20 mg/kg, exhibits a significant antiexudative and less pronounced antiproliferative effect.

3. In the model of acute visceral pain, the analgesic activity of the LIS-M compound when administered intramuscularly at doses of 5 and 10 mg/kg is up there with the diclofenac, and at a dose of 20 mg/kg exceeds the effect of the latter.

4. The LIS-M compound is free from an ulcerogenic effect when administered to rats fourfold intramuscularly at doses of 5, 10 and 20 mg/kg.

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

при внутримышечном введении в дозах 5 и 10 мг/кг выражена не слабее по сравнению с диклофенаком, в дозе 20 мг/кг превосходит эффект диклофенака.

4. Соединение LIS-M не оказывает язвочероженного действия при четырехкратном внутримышечном введении крысам в дозах 5, 10 и 20 мг/кг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Lambden S. Bench to bedside review: therapeutic modulation of nitric oxide in sepsis – an update. *Intensive Care Med. Exp.* 2019;7(1):64. doi: 10.1186/s40635-019-0274-x.
2. Kuznetsova V.L., Soloveva A.G. Nitric oxide: properties, biological role, mechanisms of action. *Modern Problems of Science and Education.* 2015;4:4621. (In Russ.)
3. Kopincová J., Puzserová A., Bernátová I. Biochemical aspects of nitric oxide synthase feedback regulation by nitric oxide. *Interdiscip. Toxicol.* 2011;4(2):63–68. doi: 10.2478/v10102-011-0012-z.

4. Lin C.Y., Wang W.H., Chen S.H. et al. Lipopolysaccharide-induced nitric oxide, prostaglandin E₂, and cytokine production of mouse and human macrophages are suppressed by pheophytin-b // *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(12):2637. doi: 10.3390/ijms18122637.
5. Венгеровский А.И. Фармакология: учебник. М.: ГЭОТАР-медиа, 2020. 848 с.
6. Fantacuzzi M., Maccallini C., Di Matteo M. et al. Screening of NOS activity and selectivity of newly synthesized acetamidines using RP-HPLC // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016;120(3):419–424. doi: 10.1016/j.jpba.2015.11.045.
7. Мотов В.С., Быкова А.В., Быков В.В., Хазанов В.А., Венгеровский А.И. Протективное действие производного аминогуанидина на модели язвенного колита у крыс // *Эксперимент. и клин. фармакология.* 2021;84(5):6–10. doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-5-6-10.
8. Bone K., Mills S. Principles and Practice of Phytotherapy. *Modern Herbal Medicine*. 2nd ed. Elsevier Health Sciences, 2013. 1056 p.
9. Holsapple M.P., Schnur M., Yim G.K.W. Pharmacological modulation of edema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine // *Agents and Actions.* 1980;10:368–373.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2013. Ч. 1. 944 с.
11. Su Y.S., Sun W.H., Chen C.C. Molecular mechanism of inflammatory pain // *World J. Anesthesiol.* 2014;3(1):71–81. doi: 10.5313/wja.v3.i1.71.
12. Huang G.J., Pan C.H., Liu F.C. et al. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Antrodia salmonea* in the lipopolysaccharide-stimulated RAW246.7 macrophages and the λ -carrageenan-induced paw edema model // *Food Chem. Toxicol.* 2012;50(5):1485–1493. doi: 10.1016/j.fct.2012.01.041.
13. Tanimoto A., Wang K.Y., Murata Y. et al. Histamine upregulates the expression of inducible nitric oxide synthase in human intimal smooth muscle cells via histamine H₁ receptor and NF- κ B signaling pathway // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27(7):1556–1561. doi: 10.1161/ATVBAHA.106.139089.
14. Manivet P., Mouillet-Richard S., Callebert J. et al. PDZ-dependent activation of nitric-oxide synthases by the serotonin 2B receptor // *J. Biol. Chem.* 2000;275(13):9324–9331. doi: 10.1074/jbc.275.13.9324.
15. Napoli C., Paolisso G., Casamassimi A. et al. Effects of nitric oxide on cell proliferation: novel insights // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;62(2):89–95. doi: 10.1016/j.jacc.2013.03.070.
16. Anavi S., Eisenberg-Bord M., Hahn-Obercyger M. et al. The role of iNOS in cholesterol-induced liver fibrosis // *Lab. Invest.* 2015;95(8):914–924. doi: 10.1038/labinvest.2015.67.
17. Vickers S.M., MacMillan-Crow L.A., Green M., Ellis C., Thompson J.A. Association of increased immunostaining for inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine with fibroblast growth factor transformation in pancreatic cancer // *Arch. Surg.* 1999;134(3):245–251. doi: 10.1001/archsurg.134.3.245.
18. Xue M., Han L., Qian W. et al. Nitric oxide stimulates acute pancreatitis pain via activating the NF- κ B signal-
4. Lin C.Y., Wang W.H., Chen S.H. et al. Lipopolysaccharide-induced nitric oxide, prostaglandin E₂, and cytokine production of mouse and human macrophages are suppressed by pheophytin-b. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(12):2637. doi: 10.3390/ijms18122637.
5. Vengerovskii A.I. (2020). *Pharmacology: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media. 848 p. (In Russ.)
6. Fantacuzzi M., Maccallini C., Di Matteo M. et al. Screening of NOS activity and selectivity of newly synthesized acetamidines using RP-HPLC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016;120(3):419–424. doi: 10.1016/j.jpba.2015.11.045.
7. Motov V.S., Bykova A.V., Bykov V.V., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I. Protective activity of aminoguanidine derivative on the model of ulcerative colitis in rats. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2021;84(5):6–10. doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-5-6-10. (In Russ.)
8. Bone K., Mills S. Principles and Practice of Phytotherapy. *Modern Herbal Medicine*. 2nd ed. Elsevier Health Sciences, 2013. 1056 p.
9. Holsapple M.P., Schnur M., Yim G.K.W. Pharmacological modulation of edema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine. *Agents and Actions.* 1980;10:368–373.
10. Mironov A.N. (eds.) (2013). *Guidance for Preclinical Studies of Drugs*. Moscow: Grif and K. 944 p. (In Russ.)
11. Su Y.S., Sun W.H., Chen C.C. Molecular mechanism of inflammatory pain. *World J. Anesthesiol.* 2014;3(1):71–81. doi: 10.5313/wja.v3.i1.71.
12. Huang G.J., Pan C.H., Liu F.C. et al. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Antrodia salmonea* in the lipopolysaccharide-stimulated RAW246.7 macrophages and the λ -carrageenan-induced paw edema model. *Food Chem. Toxicol.* 2012;50(5):1485–1493. doi: 10.1016/j.fct.2012.01.041.
13. Tanimoto A., Wang K.Y., Murata Y. et al. Histamine upregulates the expression of inducible nitric oxide synthase in human intimal smooth muscle cells via histamine H₁ receptor and NF- κ B signaling pathway. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27(7):1556–1561. doi: 10.1161/ATVBAHA.106.139089.
14. Manivet P., Mouillet-Richard S., Callebert J. et al. PDZ-dependent activation of nitric-oxide synthases by the serotonin 2B receptor. *J. Biol. Chem.* 2000;275(13):9324–9331. doi: 10.1074/jbc.275.13.9324.
15. Napoli C., Paolisso G., Casamassimi A. et al. Effects of nitric oxide on cell proliferation: novel insights. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;62(2):89–95. doi: 10.1016/j.jacc.2013.03.070.
16. Anavi S., Eisenberg-Bord M., Hahn-Obercyger M. et al. The role of iNOS in cholesterol-induced liver fibrosis. *Lab. Invest.* 2015;95(8):914–924. doi: 10.1038/labinvest.2015.67.
17. Vickers S.M., MacMillan-Crow L.A., Green M., Ellis C., Thompson J.A. Association of increased immunostaining for inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine with fibroblast growth factor transformation in pancreatic cancer. *Arch. Surg.* 1999;134(3):245–251. doi: 10.1001/archsurg.134.3.245.
18. Xue M., Han L., Qian W. et al. Nitric oxide stimulates acute pancreatitis pain via activating the NF- κ B signal-

ling pathway and inhibiting the kappa opioid receptor // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:9230958. doi: 10.1155/2020/9230958.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мотов Валерий Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-0197-7521.

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; начальник отдела фармакологических исследований ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-5145-2184.

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, научный сотрудник ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-8495-8560.

Венгеровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, заведующий кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. ORCID: 0000-0001-5094-3742.

ing pathway and inhibiting the kappa opioid receptor. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:9230958. doi: 10.1155/2020/9230958.

ABOUT THE AUTHORS

Valery S. Motov – Post-graduate, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University; Researcher, Innovative Pharmacological Research, LLC, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0197-7521.

Vladimir V. Bykov – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University; Head, Department of Pharmacological Research, Innovative Pharmacological Research, LLC, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5145-2184.

Arina V. Bykova – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Innovative Pharmacological Research, LLC, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8495-8560.

Aleksander I. Vengerovskii – Dr. Sci. (Med.), Professor, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Head, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0001-5094-3742.



Разработка гидрофильного геля на основе сульфатированного арабиногалактана

В.В. Костыро, Я.А. Костыро

ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Современный фармацевтический рынок предлагает очень ограниченный ассортимент лекарственных средств для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности. Оригинальное фармакологически активное соединение на основе калиевой соли сульфатированного производного арабиногалактана (Агсулар®) является аналогом гепарина.

Ц е л ь . Разработка гидрофильного геля на основе Агсулар® (1.5%).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Модельные композиции готовили по традиционным методикам изготовления гелей. Физико-химические свойства полученных образцов оценивали методами потенциометрии, динамической реологии и динамического светорассеяния. Также оценивалась микробиологическая чистота гелей при хранении.

Р е з у л ь т а т ы . Обоснован оптимальный состав гидрофильного геля, содержащий в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%). Это водно-аэросил-глицеринсодержащая композиция (в соотношении компонентов 1:2:13 соответственно). Исследования рН, динамической вязкости и дзета-потенциала подтверждают стабильность этого геля. Введение консерванта (нипагин 0.1%) обеспечивает микробиологическую чистоту геля при хранении.

З а к л ю ч е н и е . Разработанный гидрофильный гель является перспективным средством профилактики и лечения хронической венозной недостаточности.

Ключевые слова: сульфатированный арабиногалактан, Агсулар®, гель, аэросил.

Образец цитирования: Костыро В.В., Костыро Я.А. Разработка гидрофильного геля на основе сульфатированного арабиногалактана // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):116–127. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-116-127

Development of hydrophilic gel based on sulfated arabinogalactan

V.V. Kostyuro, Ya.A. Kostyuro

A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The modern pharmaceutical market offers a very limited range of medicines for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency. The original pharmacologically active compound based on the potassium salt of the sulfated derivative of arabinogalactan (Agsular®) is an analog of heparin.

A i m . Development of a hydrophilic gel based on Agsular®.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Model compositions were prepared according to traditional methods of gels preparation. The physical and chemical properties of the obtained samples were evaluated by methods of potentiometry, dynamic rheology and dynamic light scattering. The microbiological purity of the gels during storage was also evaluated.

Поступила в редакцию 23.07.2021
Прошла рецензирование 10.09.2021
Принята к публикации 01.10.2021

Автор, ответственный за переписку
Костыро Яна Антоновна: ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. 664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1.
E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Received 23.07.2021
Revised 10.09.2021
Accepted 01.10.2021

Corresponding author
Yana A. Kostyuro: A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, 1, Favorsky str., Irkutsk, 664033, Russia.
E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Results. The optimal composition of the hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as the active substance is substantiated. This is a water-aerosil-glycerol-containing composition (the mixture ratio being 1:2:13 respectively). Studies of pH, dynamic viscosity and zeta potential confirm the stability of this gel. The introduction of a preservative (Nipagin 0.1%) ensures the microbiological purity of the gel during storage.

Conclusion. The developed hydrophilic gel is a promising mean of prevention and treatment of chronic venous insufficiency.

Keywords: sulfated arabinogalactan, Agsular®, gel, aerosil.

Citation example: Kostyro V.V., Kostyro Ya.A. Development of a hydrophilic gel based on sulfated arabinogalactan. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):116–127. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-116-127

ВВЕДЕНИЕ

Современный фармацевтический рынок России имеет весьма ограниченный ассортимент лекарственных средств топического действия для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности, обладающих поливалентным механизмом действия, т.е. оказывающих флеботонизирующее, ангиопротекторное действие, а также уменьшающих агрегацию тромбоцитов и ускоряющих процессы регенерации.

Одним из таких лекарственных средств является гепарин, его субстанция относится к классу органопрепаратов, получаемых из легких крупного рогатого скота и слизистой оболочки тонкого кишечника свиней [1, 2]. Существенными недостатками подобных лекарственных средств являются: во-первых, наличие в их составе следов белка и гистаминоподобных веществ, что может привести к появлению аллергических реакций при применении, а во-вторых, так как это органопрепараты, они имеют сложный состав, не всегда являющийся постоянным (как в процессе производства, так и в процессе хранения), что приводит к отсутствию адекватных методов его стандартизации [3]. Поэтому поиск аналогов гепарина, лишенных его недостатков, является весьма актуальной задачей медицинской и фармацевтической науки.

В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН разработано оригинальное фармакологически активное соединение – калиевая соль сульфатированного производного арабиногалактана (Агсулар®) (рис. 1) [4, 5]. Его безопасность и фармакологическая активность подтверждены экспериментальными доклиническими исследованиями, проведенными Научно-клиническим центром токсикологии им. акад. С.Н. Голикова ФМБА (г. Санкт-Петербург) и показавшими перспективность использования Агсулар® в медицинской практике в качестве гипополипидемического и антикоагулянтного средства, подобного гепарину [6, 7].

INTRODUCTION

The modern pharmaceutical market of Russia has a very limited range of topical medicines for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency, which have a polyvalent mechanism of action, i.e. phlebotonic, angioprotective effect, as well as reducing platelet aggregation and accelerating regenerative processes.

One of such medicines is heparin, its substance belongs to the class of organopreparations obtained from the lungs of cattle and the mucous membrane of the small intestine of pigs [1, 2]. Significant disadvantages of such medicines are: firstly, the presence of protein traces and histamine-like substances in their composition, which can lead to allergic reactions when used, and, secondly, since these are organopreparations, and have a complex composition that is not always constant (both during production and during storage), which results in the lack of adequate methods of its standardization [3]. Therefore, the search for analogues of heparin, devoid of its disadvantages, is a very urgent task of medical and pharmaceutical science.

An original pharmacologically active compound has been developed in A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry (Irkutsk, Russia), the potassium salt of the sulfated derivative of arabinogalactan (Agsular®) (Fig. 1) [4, 5]. Its safety and pharmacological activity have been confirmed by experimental preclinical studies conducted by the S.N. Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology (St. Petersburg) and showed the prospects of Agsular® use in medical practice as a heparin-like hypolipidemic and anticoagulant agent [6, 7].

Since Agsular® is a highly water-soluble compound, the most rational and optimal from technological point of view, as well as taking into account its physical and chemical properties and the range of modern excipients, is a semisolid dosage form of topical action, that is a hydrophilic-based ointment in the form of a gel.

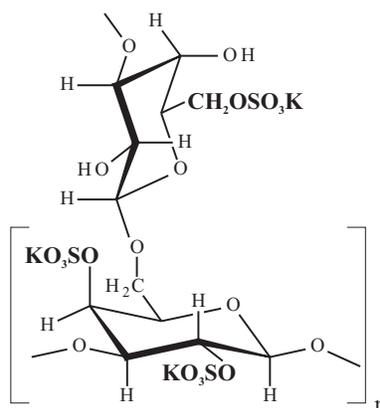


Рис. 1. Фрагмент структуры Агсулар®
Fig. 1. Fragment of the Agsular® structure

Так как Агсулар® является хорошо растворимым в воде соединением, то наиболее рациональной и оптимальной с технологической точки зрения, а также с учетом его физико-химических свойств и ассортимента современных вспомогательных веществ является мягкая лекарственная форма топического действия – мазь на гидрофильной основе, представленная в виде геля.

Расчет эффективной терапевтической концентрации Агсулар® (1.5%) в геле был произведен на основании проведенных доклинических исследований и по аналогии с официальным препаратом для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности на основе гепарина «Гепариновая мазь» (ЛС-000483, 100 ЕД/г мази, АО «Алтайвитамины», Россия) [8] – мазь топического действия, содержащая минимальное количество гепарина и проявляющая оптимальное терапевтическое действие.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка гидрофильного геля, содержащего в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения гелей использованы: фармакологически активное соединение Агсулар®, полученное на основе арабиногалактана (ФС-000905) [8] согласно методике [4, 5] с чистотой 98 %; Аэросил® (коллоидный диоксид кремния) – AEROSIL® 200 Pharma (ФС-000068, Evonik Degussa, Германия) [8]; вода очищенная (ФС.2.2.0020.18) [9]; глицерол (ФС.2.2.0006.15) [9]; карбомер – Carbopol® EDT 2001 (Lubrizol, Германия) [10]; нипагин (methylparaben, CAS No. 99-76-3, Sigma-Aldrich, США); триэтанолламин (ТЭА) (чистый) (ТУ 2423-168-00203335-2007, Россия).

The calculation of the effective therapeutic concentration of Agsular® (1.5%) in the gel was made on the basis of preclinical studies and by analogy with the official heparin-based preparation for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency Heparin ointment (LS-000483, 100 U/g of ointment, Altaivitamins, JSC, Russia) [8], topical ointment containing a minimum amount of heparin and showing optimal therapeutic effect.

AIM OF THE RESEARCH

Development of a hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as an active agent.

MATERIALS AND METHODS

To obtain gels, the following were used: pharmacologically active compound Agsular®, derived from arabinogalactan (FS-000905) [8] according to the method [4, 5] with a purity of 98%; Aerosil® (colloidal silicon dioxide) – AEROSIL® 200 Pharma (FS-000068, Evonik Degussa GmbH, Germany) [8]; purified water (FS.2.2.0020.18) [9]; glycerol (FS.2.2.0006.15) [9]; carbomer – Carbopol® EDT 2001 (Lubrizol Deutschland GmbH, Germany) [10]; Nipagin (methylparaben, CAS No. 99-76-3, Sigma-Aldrich Corp, USA); triethanolamine (TEA) (pure) (Technic Specification 2423-168-00203335-2007, Russia).

The pH of the gels was measured by the potentiometric method (General Pharmacopeia Monograph (GPM).1.2.1.0004.15 [9]) at a temperature of 20°C using an Expert-pH pH-meter (Econix-Expert, LLC, Russia).

The study of the rheological properties of gels was carried out by dynamic rheology (GPM.1.2.1.0015.15 [9]) on a modified Rheotest 2.1 rotational viscosimeter (Rheotest Medingen GmbH, Germany) with a cylinder-cylinder measuring module (ratio between

Измерение pH гелей проводили потенциометрическим методом (ОФС.1.2.1.0004.15 [9]) при температуре 20 °С с использованием pH-метра «Эксперт-pH» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия).

Исследование реологических свойств гелей осуществляли методом динамической реологии (ОФС.1.2.1.0015.15 [9]) на модифицированном реовискозиметре Rheotest 2.1 (Германия) с измерительным модулем «цилиндр-цилиндр» (отношение между радиусами 1.02) в режиме контролируемой скорости сдвига. Скорость сдвига изменяли в пределах 0.1–800 с⁻¹.

Дзета-потенциал гелей измеряли методом динамического светорассеяния с использованием прибора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Великобритания). Измерения проводились в стеклянных кюветах 1×1 см с квадратной горловиной для безводных образцов с использованием универсальных погружных электродов. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения семейства Dispersion technology Zetasizer family software v7.01 (Malvern Instruments Ltd, Великобритания).

Дзета-потенциал – основной показатель стабильности коллоидных систем в жидких средах. Его значение (±30 мВ), являющееся характерным для условного разделения низко-заряженных и высоко-заряженных поверхностей, считается пороговым для стабильных систем [11].

Определение микробиологической чистоты проводили на средней пробе (10 г) каждого геля в соответствии требованиями ОФС.1.2.4.0002.18 [9].

Исследования долгосрочной стабильности гелей проводились при хранении в естественных условиях, обеспечивающих комнатную температуру (+15...–25 °С), относительную влажность воздуха не более 50 % и защиту от прямых солнечных лучей. Физико-химические свойства, включая внешний вид, pH, динамическую вязкость, дзета-потенциал и микробиологическую чистоту, определяли с интервалом 3 мес на протяжении 1 года.

Все полученные данные были статистически обработаны ($p = 95\%$) при помощи критерия Стьюдента в соответствии требованиями ОФС.1.1.0013.15 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день в мировой фармацевтической практике для приготовления гелей наиболее широкое распространение получили синтетические высокомолекулярные полимеры акриловой кислоты, сшитые аллиловым эфиром сахарозы или пентаэритрита, называемые ред-

radii is 1.02) in a controlled shear rate mode. The shear rate was varied within 0.1–800 s⁻¹.

The zeta potential of the gels was measured by dynamic light scattering using a Zetasizer Nano ZS device (Malvern Instruments Ltd, UK). Measurements were carried out in 1×1 cm glass cuvettes with a square neck for anhydrous samples using universal immersion electrodes. The results were processed using a Dispersion technology Zetasizer family v7.01 software (Malvern Instruments Ltd, UK).

Zeta potential is the main indicator of the stability of colloidal systems in liquid media. Its value (±30 mV), which is characteristic of the conditional separation of low- and highly-charged surfaces, is considered the threshold for stable systems [11].

Microbiological purity was determined on an average sample (10 g) of each gel in accordance with the requirements of GPM.1.2.4.0002.18 [9].

Studies of the long-term stability of the gels were carried out when stored in natural conditions that provide room temperature (+15...–25°C), relative humidity of no more than 50% and protection from direct sunlight. Physical and chemical properties, including appearance, pH, dynamic viscosity, zeta potential and microbiological purity, were determined at intervals of 3 months over the period of 1 year.

All the data obtained were statistically processed ($p = 95\%$) using the Student's *t*-test in accordance with the requirements of GPM.1.1.0013.15 [9].

RESULTS AND DISCUSSION

To date, in the world pharmaceutical practice, the synthetic high-molecular polymers of acrylic acid, crosslinked with allyl ether of sucrose or pentaerythritol, called lightly crosslinked acrylic polymers or carbomers, have become the most widely used compounds for the preparation of gels.

To develop a hydrophilic gel containing Agsular® (a water-soluble high-molecular compound that is a sufficiently strong electrolyte) from a large assortment of carbomers presented in Russia, the Carbopol® EDT 2001 was selected, a low-toxic gel-forming agent that swells very quickly in water and easily disperses without the formation of lumps, as well as having high stability in the presence of electrolytes [10].

The aqueous solution of Agsular® (1.5%) has a pH 5.2–5.3, therefore, the gel of the neutralized carbomer after adding a solution of the active substance to it should have a pH 5.25 ± 5% (4.99–5.51), which corresponds to the physiological pH value of the skin (5.5) [12]. To obtain a transparent gel, pure

косшитыми акриловыми полимерами или карбомерами.

Для разработки гидрофильного геля, содержащего Агсулар® (водорастворимое высокомолекулярное соединение, являющееся достаточно сильным электролитом), из большого ассортимента карбомеров, представленных в России, был выбран Carbopol® EDT 2001 – малотоксичный гелеобразователь, очень быстро набухающий в воде и легко диспергирующийся без образования комков, а также имеющий высокую стабильность в присутствии электролитов [10].

Водный раствор Агсулар® (1.5%) имеет рН 5.2–5.3, поэтому гель нейтрализованного карбомера после внесения в него раствора действующего вещества должен иметь значение рН $5.25 \pm 5\%$ (4.99–5.51), что соответствует физиологическому значению рН кожи (5.5) [12]. Для получения прозрачного геля в качестве нейтрализующего агента использовали ТЭА в чистом виде, что является весьма рациональным и технологически выгодным решением, поскольку позволяет направить на стадию набухания полимера практически всю массу воды очищенной по прописи и исключает технологическую стадию приготовления раствора-нейтрализатора. Использование ТЭА позволяет поддерживать рН геля на заданном уровне, в результате чего не требуется введение дополнительных вспомогательных веществ, регулирующих рН лекарственной формы.

Оптимальная концентрация карбомера и количество ТЭА, необходимое для получения 1.5% геля Агсулар® с заданным рН, была определена при помощи модельных образцов (КА1–КА4) (табл. 1).

Как видно из представленных данных, традиционно используемые для получения гелей топического действия концентрации карбомера до 1% (в этом случае гелеобразование происходит намного эффективнее) не приводят к получению вязко-пластичной гелевой системы. В технической документации [10] допускается применение карбомера в концентрации до 3% (КА4), однако в результате исследования реологических свойств данного геля было установлено, что разработанный состав не является оптимальным, так как его реологические характеристики не удовлетворяют требованиям «технологического реологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей [13] (рис. 2), а технология получения геля экономически невыгодна и может привести в дальнейшем к удорожанию конечного продукта.

В связи с этим для дальнейшего изучения в качестве гелеобразователя был выбран коллоид-

TEA was used as a neutralizing agent, which is a very rational and technologically advantageous solution, since it allows to direct almost the entire mass of water purified according to the prescription (GM) to the swelling stage of the polymer, and excludes the technological stage of preparation of the neutralizing solution. The use of TEA makes it possible to maintain the pH of the gel at a given level, so the introduction of additional auxiliary substances regulating the pH of the dosage form is not required.

The optimal carbomer concentration and the amount of TEA required to obtain 1.5% Agsular® gel with a given pH was determined using model samples (KA1–KA4) (Table 1).

As can be seen from the presented data, carbomer concentrations up to 1% are traditionally used to produce topical action gels (thus, gelation occurs much more efficiently) do not lead to the formation of a viscous-plastic gel system. In the technical documentation [10], the use of carbomer in concentrations up to 3% (KA4) is allowed, however, as a result of the study of the rheological properties of this gel, it was found that the developed composition is not optimal, since its rheological characteristics do not meet the requirements of the technological rheological optimum of extrusion for hydrophilic gels [13] (Fig. 2), and the technology of this gel production is economically unprofitable and may lead to an increase in the cost of the final product in the future.

In this regard, colloidal silicon dioxide (Aerosil®), which is a very light white highly dispersed, micronized powder with a particle size of up to 40 μm (mainly 10–30 μm), belonging to inorganic synthetic polymers, was chosen for further study as a gel-forming agent.

It contains siloxane Si-O-Si and silanol Si-OH functional groups that are unevenly distributed: there are surface groups that are free or connected by hydrogen bridges, which determine a high affinity for water and other polar liquids; and silanol groups inside the molecule, which can also be interconnected by hydrogen bridges [14].

As a result, a branched space structure is formed which participates in the processes of gelation when Aerosil® is dispersed in a liquid, due to the formation of a three-dimensional lattice from its aggregates, which externally manifests itself in the form of thickening. The less polar the liquid, the greater this effect. The gel will be transparent if the liquid refractive index (glycerol, liquid paraffin and fatty oils, Aesilolun-5 polyethylsiloxane fluid, vinylin and polyethylene oxide 400) is close to the refractive index of

Таблица 1. Состав и органолептическая характеристика карбомерных гелей с Агсулар®
Table 1. Composition and organoleptic characteristics of carbomer gels with Agsular®

Код Code	Состав модельной композиции Composition	Внешний вид Appearance	Результат Result
КА1	Карбомер 0.5 / Carbomer 0.5 ТЭА 0.3 / TEA 0.3 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Прозрачный раствор светло-желтого цвета, добавление 0.103 ± 0.003 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает A clear solution of light yellow color, the addition of 0.103 ± 0.003 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА2	Карбомер 1.0 / Carbomer 1.0 ТЭА 0.6 / TEA 0.6 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Низковязкая прозрачная жидкость светло-желтого цвета, добавление 0.160 ± 0.006 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает A low-viscosity transparent liquid of light yellow color, the addition of 0.160 ± 0.006 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА3	Карбомер 2.0 / Carbomer 2.0 ТЭА 1.2 / TEA 1.2 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Вязкая прозрачная жидкость светло-желтого цвета, добавление 0.303 ± 0.003 г ТЭА (до pH 5.5) загущения не вызывает Viscous transparent liquid of light yellow color, the addition of 0.303 ± 0.003 g of TEA (up to pH 5.5) does not cause thickening	Неудовлетворительный Unsatisfactory
КА4	Карбомер 3.0 / Carbomer 3.0 ТЭА 1.8 / TEA 1.8 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Вода очищенная до 100.0 Purified water up to 100.0	Вязкий гель светло-желтого цвета с pH 5.413 ± 0.007 Viscous gel of light yellow color with a pH 5.413 ± 0.007	Удовлетворительный Satisfactory

Примечание. Значения выражены как среднее ± стандартное отклонение среднего; $n = 3$ ($p = 0.05$). ТЭА – триэтаноламин.
Note. The values are expressed as the mean ± standard deviation of the mean; $n = 3$ ($p = 0.05$). TEA – triethanolamine.

ный диоксид кремния (Аэросил®), представляющий собой очень легкий белый высокодисперсный, микронизированный порошок с размером частиц до 40 мкм (в основном 10–30 мкм), относящийся к неорганическим синтетическим полимерам.

Он содержит силоксановые Si-O-Si и силаноловые Si-OH функциональные группы, которые

Aerosil® (1.45). When Aerosil® is injected into these liquids in an amount of 8–16%, thixotropic gels are formed, having a soft plastic consistency, well applied and fixed on the skin, slowly releasing medicinal substances [15]. At the same time, the presence of Aerosil® in semisolid dosage forms for topical use, does not cause irritating and general toxic effects, and also disorders of metabolism in the skin [16].

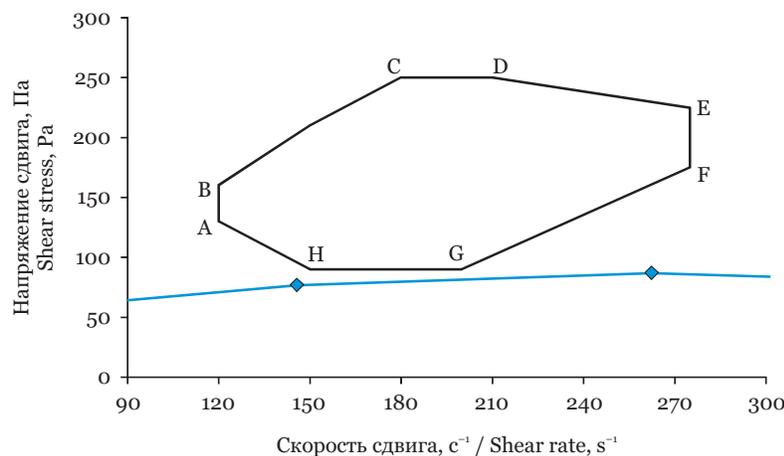


Рис. 2. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига модельной композиции КА4 (гелеобразователь – Carbopol® EDT 2001 (3%)) при 20 °С; буквы А–Н – границы «технологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей

Fig. 2. The shear stress – shear rate dependence of the KA4 model composition (gelation agent is Carbopol® EDT 2001 (3%)) at 20 °С; letters A–H are the boundaries of the technological optimum of extrusion for hydrophilic gels

распределены неравномерно: различают поверхностные группы, свободные или соединенные водородными мостиками, определяющие высокое сродство к воде и другим полярным жидкостям, и силаноловые группы внутри молекулы, которые также могут соединяться между собой водородными мостиками [14].

В результате образуется разветвленная объемная структура, участвующая в процессах гелеобразования при диспергировании Аэросила® в жидкости за счет возникновения трехмерной решетки из его агрегатов, внешне проявляющаяся в виде загущения. Чем менее полярна жидкость, тем значительнее этот эффект. Гель будет прозрачным, если коэффициент преломления жидкости (глицерол, вазелиновое и жирные масла, полиэтилсилоксановая жидкость «Эсилон-5», винилин и полиэтиленоксид 400) близок к коэффициенту преломления Аэросила® (1.45). При введении Аэросила® в эти жидкости в количестве 8–16 % образуются тиксотропные гели, имеющие мягкую пластичную консистенцию, хорошо наносимые и фиксируемые на коже, замедленно высвобождающие лекарственные вещества [15]. При этом присутствие Аэросила® в мягких лекарственных формах при наружном применении не вызывает раздражающего и общетоксического действия, а также не нарушает кожный обмен [16].

Для получения экспериментальных фармацевтических композиций на основе Агсулар® был использован AEROSIL® 200 Pharma, являющийся гидрофильным высокодисперсным продуктом, легко диспергирующимся в жидкостях и высокоэффективным в качестве гелеобразующего агента [14].

Учитывая физико-химические свойства Агсулар®, для изготовления аэросилсодержащего геля целесообразно использование гидрофильной дисперсионной среды, состоящей из воды очищенной и глицерола – гидрофильного неводного растворителя. В фармацевтической практике применяют в основном 86–90% водные растворы глицерола с показателем преломления 1.4524–1.4584 [17], так как безводный (100%) глицерол очень гигроскопичен и обладает раздражающими свойствами [18], хотя и является пластификатором, уменьшающим высыхание геля и увеличивающим его реологические свойства.

Растворы глицерола в концентрации 25 % и выше не подвергаются микробному обсеменению [19], а Аэросил® не является питательным веществом для микроорганизмов [14]. Совместное применение глицерола и Аэросила® снижает

To obtain experimental Agsular®-based pharmaceutical compositions, the AEROSIL® 200 Pharma was used, which is a hydrophilic highly dispersed product, easily dispersed in liquids and highly effective as a gel-forming agent [14].

Taking into account the physical and chemical properties of Agsular®, it is advisable to use a hydrophilic dispersion medium consisting of purified water and glycerol, a hydrophilic non-aqueous solvent, for the manufacture of an aerosil-containing gel. In pharmaceutical practice, 86–90% aqueous solutions of glycerol with a refractive index of 1.4524–1.4584 are mainly used [17], since anhydrous (100%) glycerol is very hygroscopic and has irritating properties [18], although it is a plasticizer that reduces gel drying and improves its rheological characteristics.

Glycerol solutions at a concentration of 25% and higher are not subjected to microbial contamination [19], and Aerosil® is not a nutrient for microorganisms [14]. The combined use of glycerol and Aerosil® reduces microbial contamination of gels, therefore, it is believed that no extra preservatives for dosage forms based on them, are required.

For experimental studies, model compositions with a glycerol concentration of 25% or higher and the maximum recommended concentration of Aerosil® (16%) (AGA1–AGA6) were obtained (Table 2).

As can be seen from the presented data, only the AGA 5 and AGA 6 model aerosil-containing compositions were found satisfactory according to organoleptic properties. As a result of the study of their structural and mechanical characteristics, it was found that only the rheological properties of the AGA6 sample meet the requirements of the technological rheological optimum of extrusion for hydrophilic gels [13] (Fig. 3), providing easy dosing during possible technological operations (filling tubes during packaging, squeezability of preparation from tubes, etc.), as well as the spreadability of the gel on the skin.

Therefore, further studies of microbiological purity and physicochemical properties were carried out for the AGA 6 model sample in order to determine storage stability (Table 3).

The model sample AGA6 is a dispersed gel system in which the aqueous glycerol solution Agsular® acts as a dispersion medium, and the dispersed phase is Aerosil®. As can be seen from the presented data, the high zeta potential (more than ± 30 mV) of the gel means that the dispersed system is electrically stabilized, i.e. resistant to aggregation [11]. During storage, the zeta potential of the AGA 6 model sample decreases by 32.4%, but its value remains above the

микробную контаминацию гелей, поэтому считается, что введение в лекарственные формы на их основе консервантов не требуется.

Для экспериментальных исследований были получены модельные композиции с концентрацией глицерина от 25 % и выше и максимально рекомендуемой концентрацией Аэросила® (16 %) (АГА1–АГА6) (табл. 2).

Как видно из представленных данных, только модельные аэросилсодержащие композиции АГА5 и АГА6 по органолептическим свойствам признаны удовлетворительными. В результате исследования их структурно-механических свойств было установлено, что только реологические свойства образца АГА6 удовлетворяют требованиями «технологического реологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей [13] (рис. 3), обеспечивая легкое дозирование при возможных технологических операциях (наполнение туб при фасовке, выдавливаемость из туб и т.д.), а также намазываемость геля на кожу.

Поэтому далее для модельного образца АГА6 были проведены исследования микробиологической чистоты и физико-химических свойств с

critical value (± 30 mV). Therefore, the developed gel is stable.

However, after 1 year storage, microflora growth is observed above the recommended parameters for this type of dosage form (the total count of aerobic bacteria, yeast and mold (in total) should not exceed 10^2 CFU/g) [9], which requires the introduction of a preservative in order to adjust the composition of the АГА6 model sample. To ensure the microbiological purity of the developed gel, Nipagin was chosen as a preservative, which is an antimicrobial agent of static action against a wide range of bacteria, yeast and mold fungi. Its standard concentration for use is up to 0.3%, while the activity of Nipagin increases at a $\text{pH} < 7$.

CONCLUSION

As a result of the experiments carried out, the optimal composition of the hydrophilic gel containing Agsular® (1.5%) as the active substance was substantiated. This is a water-aerosil-glycerol containing composition (the ratio of components 1:2:13 respectively) with the addition of Nipagin (0.1%). The technology of the developed gel has been tested in compliance with the conventional stages of gel

Таблица 2. Состав и характеристика аэросилсодержащих гелей с Агсулар®
Table 2. Composition and characteristics of aerosil-containing gels with Agsular®

Код Code	Состав модельной композиции Composition	Внешний вид Appearance	pH	Результат Result
АГА1 AGA1	Вода очищенная 63.8 / Purified water 63.8 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 30.0 / Glycerol (90%) 30.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Слегка вязкая суспензия белого цвета Slightly viscous suspension of white color	5.027 ± 0.009	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА2 AGA2	Вода очищенная 52.2 / Purified water 52.2 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 40.0 / Glycerol (90%) 40.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Вязкая суспензия белого цвета Viscous suspension of white color	5.113 ± 0.003	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА3 AGA3	Вода очищенная 40.5 / Purified water 40.5 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 50.0 / Glycerol (90%) 50.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Густая масса белого цвета Viscous mass of white color	5.210 ± 0.006	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА4 AGA4	Вода очищенная 29.0 / Purified water 29.0 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 60.0 / Glycerol (90%) 60.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Опалесцирующая густая масса светло-желтого цвета Opalescent viscous mass of light yellow color	5.260 ± 0.006	Неудовлетво- рительный Unsatisfactory
АГА5 AGA5	Вода очищенная 17.5 / Purified water 17.5 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 70.0 / Glycerol (90%) 70.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Опалесцирующий гель светло-желтого цвета Opalescent gel of light yellow color	5.393 ± 0.009	Удовлетвори- тельный Satisfactory
АГА6 AGA6	Вода очищенная 6.0 / Purified water 6.0 Агсулар® 1.5 / Agsular® 1.5 Глицерол (90%) 80.0 / Glycerol (90%) 80.0 Аэросил® до 100.0 / Aerosil® up to 100	Прозрачный гель светло- желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.443 ± 0.003	Удовлетвори- тельный Satisfactory

Примечание. Значения выражены как среднее \pm стандартное отклонение среднего; $n = 3$ ($p = 0.05$).
Note. The values are expressed as the mean \pm standard deviation of the mean; $n = 3$ ($p = 0.05$).

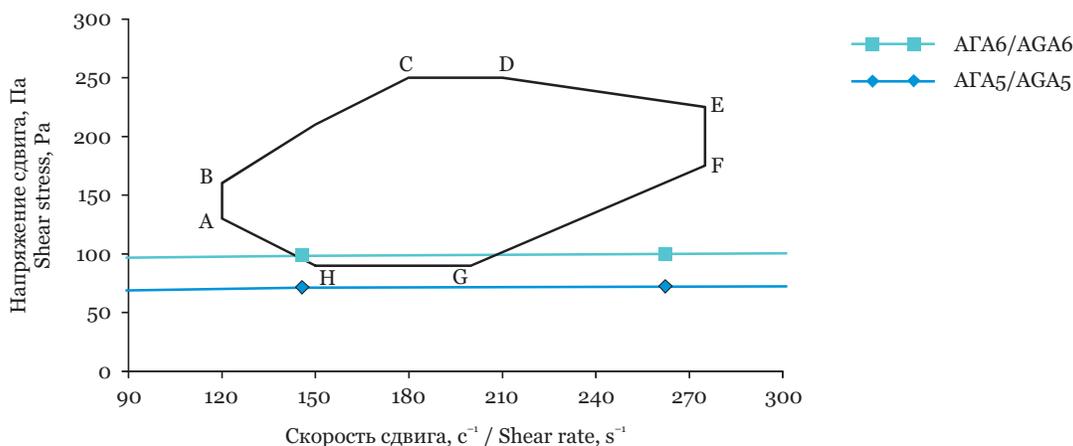


Рис. 3. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига модельных композиций АГА5 и АГА 6 (гелеобразователь – AEROSIL® 200 Pharma) при 20 °С; буквы А–Н – границы «технологического оптимума экструзии» для гидрофильных гелей

Fig. 3. The shear stress – shear rate dependence of the AGA5 and AGA 6 model compositions (gel-forming agent is AEROSIL® 200 Pharma) at 20°C; the letters A–H are the boundaries of the technological optimum of extrusion for hydrophilic gels

целью определения стабильности при хранении (табл. 3).

Модельный образец АГА6 представляет собой дисперсную систему – гель, в которой в качестве дисперсной среды выступает водно-глицероловый раствор Агулар®, а дисперсной фазой является Аэросил®. Как видно из представленных данных,

production. In the technological process, the following characteristics of the target product were monitored: appearance (description), authenticity, pH, viscosity, zeta potential, microbiological purity and microbial enumeration test. The obtained data formed the basis for the development of product’s specification and laboratory regulations for the pro-

Таблица 3. Исследование стабильности модельного образца АГА6 при хранении в естественных условиях
Table 3. Study of the stability of the AGA 6 model sample in real-time storage

Срок хранения Shelf-life	Внешний вид Appearance	pH	Дзета-потенциал, мВ Zeta potential, mV	Микробиологическая чистота, КОЕ/г Microbiological purity, CFU/g
До хранения Before storage	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.420 ± 0.006	-565.00 ± 29.65	25.00 ± 2.89
3 мес 3 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.417 ± 0.003	-520.00 ± 10.82	36.00 ± 1.15
6 мес 6 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.407 ± 0.007	-469.00 ± 18.82	50.00 ± 2.89
9 мес 9 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.403 ± 0.003	-408.00 ± 20.23	75.00 ± 8.66
12 мес 12 months	Прозрачный гель светло-желтого цвета Transparent gel of light yellow color	5.400 ± 0.006	-382.00 ± 16.52	152.00 ± 4.16

Примечание. Значения выражены как среднее ± стандартное отклонение среднего; n = 3 (p = 0.05).
Note. The values are expressed as the mean ± standard deviation of the mean; n = 3 (p = 0.05).

высокий дзета-потенциал (более ± 30 мВ) геля означает, что дисперсная система электрически стабилизирована, т.е. устойчива к агрегации [11]. В процессе хранения дзета-потенциал модельного образца АГА6 снижается на 32.4 %, но его значение при этом сохраняется выше критического (± 30 мВ). Следовательно, разработанный гель стабилен.

Однако после 1 года хранения наблюдается рост микрофлоры выше рекомендуемых требований для данного вида лекарственной формы (общее количество аэробных бактерий, дрожжей и плесени (суммарно) не должно превышать 10^2 КОЕ/г) [9], что требует введения консерванта с целью корректировки состава модельного образца АГА6. Для обеспечения микробиологической чистоты разработанного геля в качестве консерванта был выбран нипагин, являющийся противомикробным средством статического действия по отношению к широкому спектру бактерий, дрожжей и плесневых грибов. Его стандартная концентрация для использования составляет до 0.3 %, при этом активность нипагина возрастает при уровне рН < 7.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов обоснован оптимальный состав гидрофильного геля, содержащий в качестве действующего вещества Агсулар® (1.5%). Это водно-аэроил-глицеролсодержащая композиция (в соотношении компонентов 1:2:13 соответственно) с добавлением нипагина (0.1%). Технология разработанного геля апробирована с соблюдением традиционных этапов получения гелей. В технологическом процессе контролировали следующие характеристики целевого продукта: внешний вид (описание), подлинность, рН, вязкость, дзета-потенциал, микробиологическую чистоту и количественное определение. Полученные данные легли в основу разработки нормативной документации и лабораторного регламента для производства лекарственной формы «Агсулар® гель 1.5%», который является перспективным средством профилактики и лечения хронической венозной недостаточности.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Т.В. Романко, Л.А. Беловежец и В.О. Страхову за помощь в выполнении данной работы.

Финансирование работы. Работа выполнена при финансовой поддержке программы

duction of the dosage form Agsular® gel 1.5%, which is a promising pharmaceutical for prevention and treatment of chronic venous insufficiency.

Acknowledgement. The authors are grateful to T.V. Romanko, L.A. Belovezhets and V.O. Strakhov for their assistance in carrying out this work.

Funding. The research was carried out with the financial support of the fundamental research Program of the Presidium of the Russian Academy of Sciences “Fundamental Science for Medicine” (2013–2014) No. 5: Project No. 5.40 “Development of a reference medicinal product for the prevention and treatment of chronic venous insufficiency” and Program V.48 “Fundamental physical and chemical studies of the mechanisms of physiological processes and the creation on their basis of pharmacological substances and dosage forms for the treatment and prevention of socially significant diseases” (2013–2020): Project V.48.1.2 “Search for new biologically active substances based on the biomass of coniferous species of Siberia and the Far East, screening of the biological activity of promising compounds. Development of technologies for obtaining natural substances and determination of their practical significance.”

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

фундаментальных исследований президиума РАН № 5 «Фундаментальные науки – медицине» (2013–2014 гг.): Проект № 5.40 «Разработка оригинального лекарственного препарата для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности» и программы V.48 «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний» (2013–2020 гг.): Проект V.48.1.2 «Поиск новых биологически активных веществ на основе биомассы хвойных пород Сибири и Дальнего Востока, скрининг биологической активности перспективных соединений. Разработка технологий получения природных субстанций и определение их практической значимости».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васюков С.Е., Ермолаев А.С., Фрумин Л.Е., Донецкий И.А. Способ получения гепарина. Патент РФ 2042356. Публикация: 27.08.1995.
2. Иванкин А.Н. Биологически активные вещества из животной ткани и микроорганизмов. Методы получения и структурно-функциональные взаимосвязи: автореф. дис. ... д-ра хим. наук. М., 1998. 40 с.
3. Ролик И.С. Основы клинической фармакологии органолепепаратов. Руководство. М.: РегБиоМед, 2004. 336 с.
4. Костыро Я.А., Станкевич В.К., Трофимов Б.А. Способ получения сульфатированных производных арабиногалактана, обладающих антикоагулянтной и гиполипидемической активностью. Патент РФ 2532915. Публикация: 20.11.2014.
5. Kostyuro Ya.A., Stankevich V.K. New approach to the synthesis of an active substance of Agsular® pharmaceutical for the prevention and treatment of atherosclerosis // Russ. Chem. Bull. 2015;64(7):1576–1580. doi: 10.1007/s11172-015-1044-x.
6. Костыро Я.А., Колбасов С.Е. Исследование безопасности субстанции Агсулар® // Эксперимент. и клин. фармакология. 2017;80(S6):17.
7. Костыро Я.А., Костыро В.В. Исследование фармакологической активности субстанции Агсулар® // Эксперимент. и клин. фармакология. 2018;81(S):124. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306.
8. Государственный реестр лекарственных средств. URL: grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (дата обращения: 26.11.2021).
9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018. Т. 1–4. URL: femb.ru (дата обращения: 26.11.2021).
10. Carbopol® Polymer Products. URL: <http://www.lubrizol.com/Health/Pharmaceuticals/Excipients/Carbopol-Polymer-Products> (дата обращения: 26.11.2021).
11. ГОСТ Р 8.887-2015. Потенциал электрокинетический (дзета-потенциал) частиц в коллоидных системах. 2016. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200123490> (дата обращения: 26.11.2021).
12. Ali S.M., Yosipovitch G. Skin pH: from basic science to basic skin care // Acta Derm. Venereol. 2013;93(3):261–267. doi: 10.2340/00015555-1531.
13. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимальной консистенции: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. Харьков, 1982. 23 с.
14. Алексеев К.В., Грицкова И.А., Кедик С.А. Полимеры для фармацевтической технологии: учеб. пособие. М.: Ин-т фармацевт. технологий, 2011. 511 с.
15. Марченко Л.Г., Русак А.В., Смехова И.Е. Технология мягких лекарственных форм: учеб. пособие. СПб.: СпецЛит, 2004. 174 с.
16. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевиц Э.Я. Кремний и жизнь. Биохимия, токсикология и фармакология соединений кремния. 2-е изд. Рига: Зинатне, 1978. 587 с.
17. Иоффе Б.В. Рефрактометрические методы химии. 3-е изд. Л.: Химия, 1983. 352 с.

REFERENCES

1. Vasjukov S.E., Ermolaev A.S., Frumin L.E., Donetskij I.A. Method of heparin preparing. Patent RF No. 2042356. Date of publication: 27.08.1995. (In Russ.)
2. Ivankin A.N. (1998). *Biologically active substances from animal tissue and microorganisms. Methods of obtaining and structural and functional relationships*. Dr. Sci. (Chem.) Thesis: abstract. Moscow. 40 p. (In Russ.)
3. Rolik I.S. (2004). *Basics of the Clinical Pharmacology of Organopreparations. Guideline*. Moscow: Reg-BioMed. 336 p. (In Russ.)
4. Kostyuro J.A., Stankevich V.K., Trofimov B.A. Method of obtaining sulphated derivatives of arabinogalactan, possessing anticoagulating and hypolipidemic activity. Patent RF No. 2532915. Date of publication: 20.11.2014. (In Russ.)
5. Kostyuro Ya.A., Stankevich V.K. New approach to the synthesis of an active substance of Agsular® pharmaceutical for the prevention and treatment of atherosclerosis. *Russ. Chem. Bull.* 2015;64(7):1576–1580. doi: 10.1007/s11172-015-1044-x.
6. Kostyuro Ya.A., Kolbasov S.E. The study of safety of an active substance of Agsular®. *Experimental and Clin. Pharmacology*. 2017;80(S6):17. (In Russ.)
7. Kostyuro Ya.A., Kostyuro V.V. The study of pharmacological activity of an active substance of Agsular®. *Experiment and Clin. Pharmacology*. 2018;81(S):124. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306. (In Russ.)
8. State Register of Medicines. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (accessed 26.11.2021).
9. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.* (2018). URL: <http://femb.ru> (accessed 26.11.2021).
10. Carbopol® Polymer Products. URL: <http://www.lubrizol.com/Health/Pharmaceuticals/Excipients/Carbopol-Polymer-Products> (accessed 26.11.2021).
11. GOST R 8.887-2015. Electrokinetic potential (zeta-potential) of particles in colloidal systems. 2016. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200123490> (accessed 26.11.2021).
12. Ali S.M., Yosipovitch G. Skin pH: from basic science to basic skin care. *Acta Derm. Venereol.* 2013;93(3):261–267. doi: 10.2340/00015555-1531.
13. Arkusha A.A. (1982). *Study of the structural and mechanical properties of ointments in order to determine the optimum consistency*. Cand. Sci. (Pharmaceut.) Thesis: abstract. Kharkov. 23 p. (In Russ.)
14. Alekseev K.V., Gritskova I.A., Kedik S.A. (2011). *Polymers for Pharmaceutical Technology: Tutorial*. Moscow. 511 p. (In Russ.)
15. Marchenko L.G., Rusak A.V., Smekhova I.E. (2004). *Technology of Semisolid Dosage Forms: Tutorial*. St. Petersburg: SpetsLit. 174 p. (In Russ.)
16. Voronkov M.G., Zelchan G.I., Lukevits E.Ya. (1978). *Silicon and Life: Biochemistry, Toxicology and Pharmacology of Silicon Compounds. 2nd ed.* Riga: Zinatne. 587 p. (In Russ.)
17. Ioffe B.V. (1983). *Refractometric Methods of Chemistry. 3rd ed.* Leningrad: Chemistry. 352 p. (In Russ.)
18. Puchkova T.V., Rodyunin A.A., Bogdanova E.D. (2006). *Encyclopedia of Ingredients for Cosmetics*. Moscow: School of Cosmetic Chemists. 336 p. (In Russ.)

18. Пучкова Т.В., Родюнин А.А., Богданова Е.Д. Энциклопедия ингредиентов для косметики. М.: Школа косметических химиков, 2006. 336 с.
19. Полный медицинский справочник фармацевта. М.: Эксмо, 2013. 784 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Костыро Виталий Викторович – соискатель группы фармацевтической разработки ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия. ORCID: 0000-0002-9924-7710.

Костыро Яна Антоновна – канд. фармацевт. наук, старший научный сотрудник группы фармацевтической разработки ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия. ORCID: 0000-0003-2660-4796.

19. *Complete Medical Handbook of Pharmacist* (2013). Moscow: Eksmo. 784 p. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Vitaly V. Kostyrov – Applicant, Group of Pharmaceutical Development, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9924-7710.

Yana A. Kostyrov – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Senior Researcher, Group of Pharmaceutical Development, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2660-4796.



Анализ системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области

А.С. Джупаров¹, И.А. Джупарова¹, Г.Я. Ибрагимова²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Неравномерное размещение аптечных организаций на территории Новосибирской области (НСО), недостаточная обеспеченность фармацевтическими кадрами, особенно в отдаленных районах, падение жизненного уровня, рост общей заболеваемости населения, ограниченные материальные и финансовые ресурсы здравоохранения НСО вызвали необходимость оценки системы фармацевтической помощи для разработки мероприятий по ее совершенствованию, сохранению конституционных прав и гарантий для жителей.

Ц е л ь . Разработка и апробация методики анализа системы фармацевтической помощи населению НСО.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Для оценки был использован SWOT-анализ. На основе контент-анализа научной медицинской и фармацевтической литературы, нормативных документов правительства РФ, Минздрава РФ и НСО была составлена анкета, в которой характеризовались различные аспекты лекарственной помощи населению НСО. Группе экспертов (руководители аптечных сетей, заведующие аптеками, руководители и специалисты отдела лекарственного обеспечения населения Минздрава НСО – всего 35 чел.) было предложено оценить (проранжировать) предложенные характеристики в SWOT-матрице.

Р е з у л ь т а т ы . Установлено, что сильные стороны фармацевтической помощи населению НСО (первостепенными среди них являются развитая инфраструктура обеспечения населения фармацевтической помощью; принятие и реализация федеральных программ по стратегии лекарственного обеспечения населения и развитию здравоохранения в РФ и НСО) в 1.26 раза превышают слабые стороны системы (недостаточное финансирование лекарственного обеспечения населения региона; недостаточная обеспеченность населения аптечными организациями и фельдшерско-акушерскими пунктами в сельских населенных пунктах НСО и др.). Возможности системы фармацевтической помощи в НСО (организация отпуска лекарственных препаратов (ЛП) медицинскими работниками через амбулатории в сельских населенных пунктах НСО, в которых отсутствуют аптечные организации; увеличение доли муниципальных районов и городских округов, обеспеченных пунктами отпуска ЛП, по отношению ко всем муниципальным районам и городским округам Новосибирской области до 100 % и др.) в 1.13 раза преобладают над угрозами (рост кадрового дефицита в фармацевтической отрасли, пандемия новой коронавирусной инфекции и др.).

З а к л ю ч е н и е . Фармацевтическая помощь населению НСО характеризуется преобладанием сильных сторон над слабыми, при этом потенциальные возможности превышают угрозы. Из этого следует, что необходимо дальнейшее совершенствование фармацевтической помощи, использование ее ресурсных возможностей и укрепление сильных сторон.

Ключевые слова: фармацевтическая помощь, SWOT-анализ, Новосибирская область, лекарственные препараты, аптечные организации.

Образец цитирования: Джупаров А.С., Джупарова И.А., Ибрагимова Г.Я. Анализ системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(1):128–140. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-128-140

Поступила в редакцию 13.12.2021
Прошла рецензирование 17.01.2022
Принята к публикации 10.02.2022

Автор, ответственный за переписку
Джупарова Ирина Алексеевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: uefarm@mail.ru

Received 13.12.2021
Revised 17.01.2022
Accepted 10.02.2022

Corresponding author
Irina A. Dzhuparova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: uefarm@mail.ru

Analysis of the pharmaceutical care system of the Novosibirsk region community

A.S. Dzhuparov¹, I.A. Dzhuparova¹, G.Ya. Ibragimova²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Uneven placement of pharmacy organizations on the territory of the Novosibirsk region, want of pharmaceutical staff, especially in remote areas, falling living standards, an increase in general morbidity of the population, limited material and financial health care resources in the Novosibirsk region necessitated an assessment of the pharmaceutical care system in order to develop measures to improve it, preserve constitutional rights and guarantees for residents.

A i m . Development and testing of a methodology for analyzing the system of pharmaceutical care for the population of the Novosibirsk region.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . SWOT analysis was used for the assessment. Based on the content analysis of scientific medical and pharmaceutical literature, regulatory documents of the Government of the Russian Federation, the Ministries of Health of the Russian Federation and the Novosibirsk region, a questionnaire was compiled in which various aspects of the pharmaceutical care to the population of the Novosibirsk region were characterized. A group of experts (heads of pharmacy chains, heads of pharmacies, chiefs or deputies, specialists of the Department of Drug Provision of the Population of the Ministry of Health of the Novosibirsk region – a total of 35 people) were asked to evaluate (rank) the proposed characteristics in a SWOT matrix.

R e s u l t s . It has been established that the strengths of pharmaceutical care to the population of the Novosibirsk region (the top among them are the developed infrastructure for providing the population with pharmaceutical care; the approval and implementation of federal programs on the strategy of drug provision to the population and the development of healthcare in the Russian Federation and the Novosibirsk region) exceed by 1.26 times the weaknesses of the system (insufficient financing of drug provision to the population of the region; insufficient provision of the population with pharmacy organizations and medical and obstetric stations in rural settlements of the Novosibirsk region, etc.). Possibilities of the pharmaceutical care system in the Novosibirsk region (organization of dispensing medicines by medical staff through out-patient clinics in rural settlements of the Novosibirsk region, in which there are no pharmacy organizations; an increase in the proportion of municipal and urban districts provided with medicines dispensing outlets in relation to all municipal and urban entities of the Novosibirsk region to 100%, etc.) by 1.13 times prevails over threats (an increasing staff shortage in the pharmaceutical industry, a pandemic of a new coronavirus infection, etc.).

C o n c l u s i o n . Pharmaceutical care for the population of the Novosibirsk region is characterized by the predominance of strengths over weaknesses, while potential opportunities exceed threats. This implies the necessity to further improve pharmaceutical care, use its resource capabilities and enhance its strengths.

Keywords: pharmaceutical care, SWOT analysis, Novosibirsk region, medicines, pharmacy organizations.

Citation example: Dzhuparov A.S., Dzhuparova I.A., Ibragimova G.Ya. Analysis of the pharmaceutical care system of the Novosibirsk region community. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):128–140. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-128-140

ВВЕДЕНИЕ

По состоянию на 01.01.2020 на территории Новосибирской области розничная торговля лекарственными препаратами (ЛП) осуществлялась 1543 аптеками, аптечными пунктами (505 юридических лиц, индивидуальных предпринимателей), из них 1386 аптек, аптечных пунктов частной формы собственности (457 юридических лиц, индивидуальных предпринимателей) и 157 аптек, аптечных пунктов государственной и муниципальной форм собственности. Доля част-

INTRODUCTION

As of 01.01.2020, on the territory of the Novosibirsk region, retail trade in medicines was carried out by 1543 pharmacies, pharmacy outlets (505 legal entities, individual entrepreneurs), of which 1386 pharmacies, pharmacy outlets of private ownership (457 legal entities, individual entrepreneurs) and 157 pharmacies, pharmacy outlets of state and municipal ownership. The proportion of private business accounted for 89.3% of the total number of pharmacy organizations.

ного бизнеса составляла 89.3 % от общего числа аптечных организаций.

За период 2015–2020 годов в Новосибирской области произошло увеличение количества участников на фармацевтическом рынке (юридических лиц, индивидуальных предпринимателей) на 5.2 % и на 13.1 % аптек, аптечных пунктов и аптечных киосков. Развитие фармацевтического рынка осуществлялось в соответствии с постановлением губернатора Новосибирской области от 20.12.2019 № 287 «Об утверждении перечня товарных рынков для содействия развитию конкуренции и плана мероприятий (дорожной карты) по содействию развитию конкуренции в Новосибирской области» по следующим направлениям: содействие развитию конкуренции на рынке услуг розничной торговли лекарственными препаратами, медицинскими изделиями и сопутствующими товарами; формирование условий для развития, поддержки и защиты субъектов малого и среднего предпринимательства, работающих на рынке; повышение уровня их конкурентоспособности, а также содействие устранению административных барьеров.

Доля организаций частной формы собственности в сфере услуг розничной торговли лекарственными препаратами, медицинскими изделиями и другими товарами аптечного ассортимента составляет в Новосибирской области 89.8 %, что значительно превышает ключевой показатель, установленный стандартом развития конкуренции в субъектах Российской Федерации – на уровне 60 % [1].

На территории Новосибирской области выявлено неравномерное размещение аптечных организаций. Основная часть аптечных организаций расположена на территории городов Новосибирск, Бердск, Искитим, Обь, где в связи с большой плотностью их размещения имеет место высокий уровень конкуренции среди хозяйствующих субъектов, ниже цены на лекарственные препараты. В то же время отмечается недостаточный уровень лекарственного обеспечения жителей отдаленных населенных пунктов, расположенных в районах области, где отсутствуют аптечные организации в связи с экономической непривлекательностью для участников фармацевтического рынка. Имеет место недостаточное обеспечение фармацевтическими кадрами, особенно в отдаленных районах области, что влияет на развитие фармацевтического рынка муниципальных районов Новосибирской области. Всего на территории Новосибирской области действуют почти тысяча фельдшерско-акушерских

During the period of 2015–2020, the Novosibirsk region saw an increase in the number of participants in the pharmaceutical market (legal entities, individual entrepreneurs) by 5.2% and by 13.1% of pharmacies, pharmacy outlets and pharmacy kiosks. The development of the pharmaceutical market was carried out in accordance with the Decree of the Governor of the Novosibirsk region dated December 20, 2019 No. 287 “On approval of the list of commodity markets to promote competition and the action plan (roadmap) to encourage development of competition in the Novosibirsk region” in the following areas: fostering the competition in the retail market of medicines, medical devices and related products; creating conditions for the development, support and protection of small and medium-sized businesses operating in the market; improving their competitiveness, as well as facilitating the removal of administrative barriers.

The proportion of private-owned organizations in the retail trade of medicines, medical devices and other pharmacy products in the Novosibirsk region is 89.8%, which significantly exceeds the key indicator set by the standard for the development of competition in the subjects of the Russian Federation at the level of 60% [1].

An uneven placement of pharmacy organizations was revealed on the territory of the Novosibirsk region. The main part of pharmacy organizations is located on the territory of Novosibirsk, Berdsk, Iskitim, Ob cities, where, due to the high density of their placement, there is a high level of competition among economic entities with lower prices for medicines. At the same time, there is an insufficient level of drug provision for residents of remote settlements located in areas of the region where there are no pharmacy organizations due to the economic unattractiveness for participants in the pharmaceutical market. There is want of pharmaceutical staff, especially in remote areas of the region, which affects the development of the pharmaceutical market of municipal districts of the Novosibirsk region, takes place. In total, almost a thousand medical and obstetric stations (MOSs) operate in the Novosibirsk region. Until the end of 2021 in the municipal districts of the Novosibirsk region, it is planned to put into operation 30 new MOSs as a part of the national project “Healthcare.” The MOSs are built and equipped in accordance with modern requirements and standards [2].

However, the decline in living standards, the increase in the general morbidity of the population, the limited material and financial resources of the Novosibirsk region healthcare caused the need to

пунктов (ФАП). До конца 2021 г. в муниципальных районах Новосибирской области планируется ввести в эксплуатацию 30 новых ФАП, строящихся в рамках национального проекта «Здравоохранение». ФАП строятся и оснащаются в соответствии с современными требованиями и стандартами [2].

Однако падение жизненного уровня, рост общей заболеваемости населения, ограниченные материальные и финансовые ресурсы здравоохранения Новосибирской области вызвали необходимость оценки системы фармацевтической помощи для разработки мероприятий по ее совершенствованию, сохранению конституционных прав и гарантий для жителей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и апробация методики качественной и количественной оценки фармацевтической помощи населению Новосибирской области.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Разработать анкету для экспертной оценки сильных и слабых сторон, стратегических возможностей и угроз раскрытию потенциала системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области.

2. Разработать и апробировать методику качественного и количественного SWOT-анализа системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выбора направлений совершенствования региональной лекарственной политики был использован SWOT-анализ, который позволяет разделить факторы, описывающие объект исследования – Новосибирскую область – на 4 сегмента (составляющие): сильные стороны (Strengths), слабые стороны (Weaknesses), возможности (Opportunities), угрозы (Threats). SWOT-анализ позволяет рассматривать сильные и слабые стороны объекта в текущем временном периоде, прогнозировать новые возможности на основе анализа внешних факторов, оценивать угрозы и прогнозировать трудности, которые могут возникнуть. Благодаря SWOT-анализу можно выявить, какие направления в стратегическом плане являются определяющими или ведущими [3, 4].

На основе контент-анализа научной медицинской и фармацевтической литературы, нормативных документов правительства РФ, Министерства здравоохранения РФ и Новосибирской

evaluate the pharmaceutical care system to develop measures to improve it, preserve constitutional rights and guarantees for residents.

AIM OF THE RESEARCH

Development and approbation of a methodology for qualitative and quantitative assessment of pharmaceutical care for the population of the Novosibirsk region.

To achieve this aim, the following tasks were defined:

1. Develop a questionnaire for expert assessment of strengths and weaknesses, strategic opportunities and threats to unlocking the potential of the pharmaceutical care system for the population of the Novosibirsk region.

2. Develop and test a methodology for qualitative and quantitative SWOT analysis of the pharmaceutical care system for the population of the Novosibirsk region.

MATERIALS AND METHODS

To select the directions for improving regional pharmaceutical policy, a SWOT analysis was used, which allows us to divide the factors describing the object of research – the Novosibirsk region – into 4 segments (components): Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats. SWOT analysis allows you to consider the strengths and weaknesses of an object in the current time period, predict new opportunities based on the analysis of external factors, assess threats and predict difficulties that may arise. Thanks to SWOT analysis, it is possible to identify which areas in the strategic plan are decisive or leading [3, 4].

Based on the content analysis of scientific medical and pharmaceutical literature, regulatory documents of the Government of the Russian Federation, the Ministries of Health of the Russian Federation and the Novosibirsk region on drug provision of the population, a questionnaire was compiled and proposed to the experts.

The formation of an expert group is the most important procedure that largely determines the quality of expert assessment. It involves determining the quantitative and qualitative composition of the expert group. The expert group should include at least 11 people, which ensures the reliability of the data obtained within 90% and above [3–8].

The expert group included heads of pharmacy chains, heads of pharmacies, chiefs or deputies, specialists of the Department of Drug Provision of the Population of the Ministry of Health of the Novosibirsk region, the Territorial Administration of the

области по лекарственному обеспечению населения была составлена анкета, предложенная экспертам.

Формирование экспертной группы является важнейшей процедурой, в значительной степени определяющей качество экспертной оценки. Оно предполагает определение количественного и качественного состава экспертов. Группа экспертов должна включать не менее 11 чел., что обеспечивает достоверность полученных данных в пределах 90 % и выше [3–8].

В состав экспертной группы вошли руководители аптечных сетей, заведующие аптеками, начальники или заместители, специалисты отдела лекарственного обеспечения населения Министерства здравоохранения Новосибирской области, территориального управления Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения по Новосибирской области, ГКУ НСО «Новосибоблфарм» (35 чел.). Оценка уровня компетентности экспертов проводилась по наличию квалификационной категории, ученой степени, стажу работы по специальности, а также по коэффициенту аргументации.

Уровень компетентности в количественном выражении рассчитывался по формуле

$$K = 0.5 \cdot K_a,$$

где K – уровень компетентности;

K_a – коэффициент аргументации.

Численное значение коэффициента аргументации определялось по эталонной таблице [6–8]. Качественный состав экспертов считается удовлетворительным, если уровень компетентности находится в пределах от 0.25 до 0.5. В нашем исследовании он составил 0.45, а коэффициент аргументации – 0.98 [6–8].

Определение степени согласованности мнений экспертов по совокупности оценок проводилось с использованием коэффициента конкордации. Сопоставимость и единство мнений экспертов была подтверждена вариабельностью относительно расхождения мнений двух экспертов (не более 2 %) [6].

В разработанной анкете-матрице был указан перечень факторов, которые характеризовали различные стороны оценки лекарственной помощи населению области [3, 4, 6, 7]. Экспертам предлагалось оценить (проранжировать) показатели в SWOT-матрице по степени важности того или иного показателя в каждом сегменте, а также они имели возможность дополнить или изменить указанные факторы. Опрос экспертов осуществлялся путем анонимного анкетирования.

Federal Service for Surveillance in Healthcare in the Novosibirsk region, the State Treasury Institution of the Novosibirsk region “Novosiboblpharm” (35 people). The assessment of the level of experts’ competence was carried out by the presence of a qualification category, academic degree, relevant professional experience, as well as by the argumentation coefficient.

The level of competence in quantitative terms was calculated using the following formula

$$K = 0.5 \cdot K_a,$$

where K – the level of competence;

K_a – the argumentation coefficient.

The numerical value of the argumentation coefficient was determined according to the reference table [6–8]. The qualitative composition of the expert group is considered satisfactory if the level of competence is in the range from 0.25 to 0.5. In our study, it was 0.45, and the argumentation coefficient was 0.98 [6–8].

The degree of consistency of expert opinions on the totality of assessments was determined using the concordance coefficient. The comparability and unity of expert opinions was confirmed by the variability regarding the divergence of opinions of two experts (no more than 2%) [6].

In the developed questionnaire matrix, a list of factors that characterized various aspects of the assessment of providing pharmaceutical care to the population of the region was indicated [3, 4, 6, 7]. The experts were asked to evaluate (rank) the indicators in the SWOT matrix according to the degree of importance of one or another indicator in each segment, and they also had the opportunity to supplement or change these factors. The survey of experts was carried out by means of an anonymous questionnaire. The expert information was processed using Statistics+ 3.5.0 and STATISTICA 6.0 software.

The methodology of SWOT analysis of the pharmaceutical care system for the population of the Novosibirsk region is shown in Fig. 1.

A quantitative SWOT analysis of the pharmaceutical care system was carried out using the method of direct ranking of factors.

Initially, the value of the rank was calculated using the formula

$$C = 1/r_i,$$

where C – the rank value;

r_i – the rank of the factors determined by the i^{th} expert.

Обработку экспертной информации осуществляли с помощью программ «Статистика+ 3.5.0» и STATISTICA 6.0.

Методика SWOT-анализа системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области представлена на рис. 1.

Количественный SWOT-анализ системы фармацевтической помощи был проведен с использованием методики прямого ранжирования факторов.

Then, the weight of the rank was determined by the formula

$$W_i = C \cdot r_i,$$

where W_i – the rank weight.

The calculation of parametric indices for the components of SWOT analysis (P_i) was carried out according to the formula

$$P_i = W_i \cdot A_i,$$

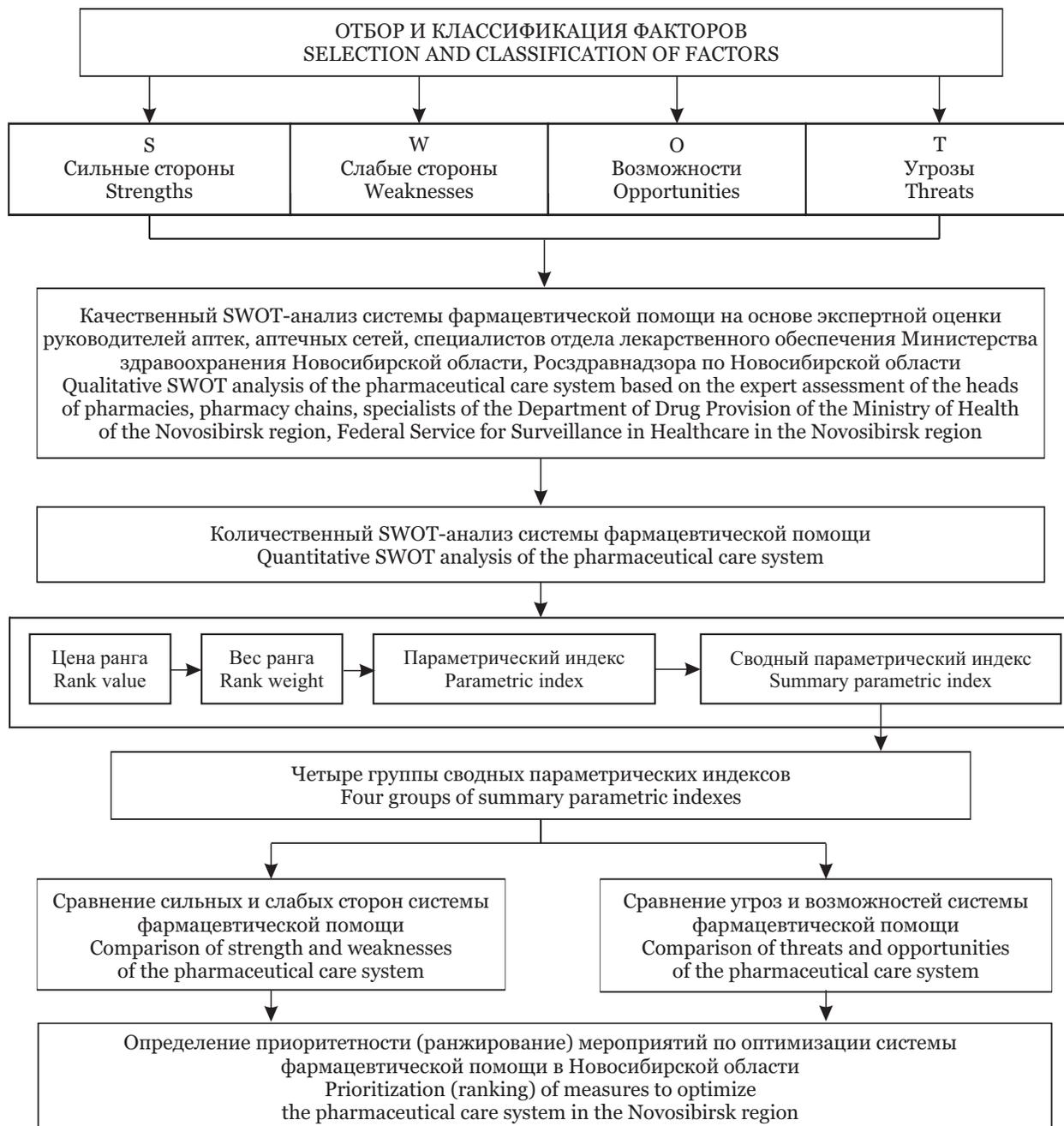


Рис. 1. Методика SWOT-анализа системы фармацевтической помощи населению Новосибирской области
Fig. 1. Methodology of SWOT analysis of the pharmaceutical care system for the population of the Novosibirsk region

Вначале рассчитывалась цена ранга по формуле

$$C = 1/r_i,$$

где C – цена ранга;

r_i – ранг фактора, определенный i -м экспертом.

Затем экспертным путем определялся вес ранга по формуле

$$W_i = C \cdot r_i,$$

где W_i – вес ранга.

Расчет параметрических индексов по составляющим SWOT-анализа (P_i) осуществлялся по формуле

$$P_i = W_i \cdot A_i,$$

где A_i – оценка фактора экспертом по 5-балльной шкале.

Расчет сводного параметрического индекса (P_s) проводился по формуле

$$P_s = \sum P_i.$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По отобранным экспертами факторам был проведен качественный SWOT-анализ, результаты которого представлены в табл. 1.

Установлено, что система фармацевтической помощи в Новосибирской области находится в относительно благоприятных условиях, что связано с действием факторов внешней среды. Качественный SWOT-анализ показал, что сильными сторонами системы оказания фармацевтической помощи населению являются: развитая инфраструктура обеспечения населения фармацевтической помощью в Новосибирской области; ежегодное принятие и реализация федеральных программ по стратегии лекарственного обеспечения населения и развитию здравоохранения в РФ и Новосибирской области, а также ежегодное принятие и реализация территориальной программы госгарантий оказания гражданам Новосибирской области бесплатной медицинской помощи, включающей лекарственное обеспечение; внедрение маркировки лекарственных средств и розничной торговли дистанционным способом ЛП и другими товарами аптечного ассортимента и др.

В качестве слабых сторон эксперты отметили недостаточное финансирование лекарственного обеспечения населения Новосибирской области; низкие темпы развития государственной информационной системы взаимодействия медицинских, аптечных и страховых медицинских организаций; высокую концентрацию субъектов обра-

where A_i – the expert's assessment of the factor on a 5-point scale.

The calculation of the summary parametric index (P_s) was carried out according to the formula

$$P_s = \sum P_i.$$

RESULTS AND DISCUSSION

According to the factors selected by the experts, a qualitative SWOT analysis was carried out, the results of which are presented in Table 1.

It has been established that the pharmaceutical care system in the Novosibirsk region is in relatively favorable conditions, which is due to the influence of environmental factors. The qualitative SWOT analysis showed that the strengths of the pharmaceutical care system are: the developed infrastructure for providing pharmaceutical care to the population in the Novosibirsk region; the annual approval and implementation of federal programs on the strategy of drug provision of the population and the development of healthcare in the Russian Federation and the Novosibirsk region, as well as the annual approval and implementation of the community-based program of state guarantees for the provision of free medical care to citizens of the Novosibirsk region, including drug provision; the introduction of labeling of medicines and distance retail trade of medicines and other pharmaceutical products, etc.

As for weaknesses, experts noted insufficient financing of drug provision to the population of the Novosibirsk region; low rates of development of the state information system of interaction between medical, pharmacy and insurance medical organizations; high concentration of subjects of circulation of medicines in urban districts along with the insufficient provision of the population with pharmacy organizations and medical and obstetric stations in rural settlements of the Novosibirsk region.

When assessing the possibilities, it was found that the implementation of development programs of the Novosibirsk region (with the deployment of pharmacy organizations and medical and obstetric stations to provide the population with medical and pharmaceutical care), the constant control of the government of the Novosibirsk region over the level of subsidized medicinal care to certain categories of citizens, the implementation of public-private partnership mechanisms in healthcare, including drug provision in the Novosibirsk region, the opening of pharmacy organizations by federal and regional pharmacy chains in the Novosibirsk region to increase the availability of medicines to the population are paramount.

Таблица 1. Результаты качественного SWOT-анализа системы фармацевтической помощи в Новосибирской области

Table 1. Results of a qualitative SWOT analysis of the pharmaceutical care system in the Novosibirsk region

Сильные стороны / Strengths

- Развитая инфраструктура обеспечения населения фармацевтической помощью в НСО
Developed infrastructure for providing the population with pharmaceutical care in the Novosibirsk region
- Повышение доступности получения государственной услуги по лицензированию фармацевтической деятельности
Increasing the availability of state services for licensing pharmaceutical activities
- Формирование и внедрение системы качества в деятельность субъектов обращения ЛС НСО по обеспечению населения качественными, эффективными и безопасными ЛП
Formation and introduction of a quality system in the activities of subjects of circulation of medicines of the Novosibirsk region to provide the population with high-quality, effective and safe medicines
- Принятие и реализация федеральных программ по стратегии лекарственного обеспечения населения и развитию здравоохранения в РФ
Approval and implementation of federal programs on the strategy of drug supply to the population and the development of healthcare in the Russian Federation
- Внедрение розничной торговли дистанционным способом ЛП и другими товарами аптечного ассортимента
Introduction of distance retailing of medicines and other pharmacy products
- Охват бесплатной лекарственной помощью (в том числе дорогостоящей) населения с высоким уровнем инвалидизации
Coverage of free pharmaceutical care (including expensive) for the population with a high level of disability
- Ежегодное принятие и реализация территориальной программы госгарантий оказания гражданам НСО бесплатной медицинской помощи, включающей лекарственное обеспечение
Annual approval and implementation of the community-based program of state guarantees for the provision of free medical care to citizens of the Novosibirsk region, including drug provision
- Контроль за ценами на ЛП в период пандемии, перерегистрация предельных отпускных цен производителей на ЛП из перечня ЖНВЛП
Control over the prices of medicines during the pandemic, re-registration of the maximum selling prices of manufacturers for medicines from the List of vital and essential medicines
- Внедрение нового порядка ввода ЛС на фармацевтическом рынке как гарантированная мера по обеспечению населения качественными, эффективными и безопасными ЛП
Implementation of a new procedure for the introduction of medicines in the pharmaceutical market as a guaranteed measure to provide the population with high-quality, effective and safe medicines
- Внедрение системы маркировки ЛП на фармацевтическом рынке для предотвращения попадания в оборот фальсифицированных, недоброкачественных и контрафактных ЛС
Introduction of a system for labeling medicines on the pharmaceutical market to prevent falsified, substandard and counterfeit medicines circulation
- Внедрение упрощенной процедуры регистрации ЛП для лечения коронавирусной инфекции
Introduction of a simplified procedure for registration of medicines for the treatment of coronavirus infection
- Открытие новых ФАП для обеспечения доступности лекарственной помощи сельским жителям в муниципальных районах НСО
Opening of new medical and obstetric stations to ensure the availability of medical care to rural residents in municipal districts of the Novosibirsk region
- Увеличение объемов финансирования государственной программы «Развитие здравоохранения НСО»
Increase in the volume of financing of the state program Development of Healthcare in the Novosibirsk region
- Внедрение информационных и телекоммуникационных технологий в систему здравоохранения НСО
Introduction of information and telecommunication technologies into the healthcare system of the Novosibirsk region
- Отпуск ЛП для медицинского применения, в том числе наркотических и психотропных ЛП, внесенных в списки II и III перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в РФ, медицинских изделий и специализированных продуктов лечебного питания за счет средств федерального бюджета и областного бюджета НСО из медицинских организаций и аптек (аптечных пунктов) региона, в соответствии с утвержденным перечнем
Dispensing of medicines for medical use, including narcotic and psychotropic medicines included in the lists II and III of the List of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors subject to control in the Russian Federation, medical devices and specialized medical nutrition products at the expense of the federal budget and the regional budget of the Novosibirsk region from medical organizations and pharmacies (pharmacy outlets) of the region, in accordance with the approved List

Продолжение табл. 1 / Table 1 continuation

- Увеличение доли организаций частной формы собственности в сфере услуг розничной торговли ЛП, медицинскими изделиями до 90.4% как гарантированная мера по развитию конкуренции для обеспечения доступности ЛП в регионе
Increase in the proportion of private-owned organizations in the retail trade of medicines and medical devices to 90.4% as a guaranteed measure to promote competition to ensure the availability of medicines in the region
- Увеличение доли рецептов, находящихся на отсроченном обеспечении, в общем количестве выписанных рецептов не более 1 % ежегодно
Increase in the proportion of prescriptions that are on deferred provision in the total number of written out prescriptions no more than 1% annually
- Увеличение стоимости и количества отпущенных ЛС на 1 пациента в НСО
Increase in the cost and quantity of dispensed medicines per 1 patient in the Novosibirsk region

Слабые стороны / Weaknesses

- Наличие нормативно-правовых актов правительства РФ, разрешающих гражданам получать взамен льготных ЛС денежную компенсацию
Availability of regulatory legal acts of the Government of the Russian Federation allowing citizens to receive monetary compensation in exchange for subsidized medicines
- Недостаточно эффективная организация работы первичного амбулаторно-поликлинического звена по прогнозированию потребности в ЛП в соответствии со стандартами и клиническими рекомендациями
Insufficiently effective organization of the work of the primary outpatient clinics in predicting the need for medicines in accordance with standards and clinical recommendations
- Недостаточная гармонизация Перечня ЖНВЛП и стандартов лечения заболеваний
Insufficient harmonization of the List of vital and essential medicines and Standards for the treatment of diseases
- Недостаточное финансирование лекарственного обеспечения населения НСО
Insufficient financing of drug provision for the population of the Novosibirsk region
- Низкие темпы развития государственной информационной системы взаимодействия медицинских, аптечных и страховых медицинских организаций
Low rates of development of the state information system for the interaction of medical, pharmacy and insurance medical organizations
- Высокая концентрация субъектов обращения ЛП в городских округах НСО
High concentration of pharmaceutical organization in the urban districts of the Novosibirsk region
- Недостаточная обеспеченность населения аптечными организациями и ФАП в сельских населенных пунктах НСО
Insufficient provision of the population with pharmacy organizations and medical and obstetric stations in rural settlements of the Novosibirsk region
- Низкий уровень управления товарными запасами в фармацевтических организациях, приведший к перебоям в поставках и дефициту ЛП в период пандемии (антибиотики, иммуномодуляторы, противовирусные ЛП, витамины группы D и С и др.)
Low level of inventory management in pharmaceutical organizations, which led to interruptions in the supply and shortage of medicines during the pandemic (antibiotics, immunomodulators, antiviral drugs, vitamins of group D and C, etc.)
- Низкая доступность для потребителей товаров, работ, услуг, субъектов предпринимательской деятельности к получению информации об организациях, осуществляющих фармацевтическую деятельность, адресах размещения аптек, аптечных пунктов
Low availability for consumers of goods, works, services, business entities of information about organizations engaged in pharmaceutical activities, addresses of pharmacies, pharmacy outlets
- Рост цен на ЛП
Rise in prices of medicines

Потенциальные возможности / Opportunities

- Реализация программ развития НСО (с дислокацией аптечных организаций и ФАП для обеспечения населения медицинской и фармацевтической помощью)
Implementation of development programs for the Novosibirsk region (with the deployment of pharmacy organizations and medical and obstetric stations to provide the population with medical and pharmaceutical care)
- Большое внимание президента РФ и правительства РФ, МЗ РФ к повышению уровня оказания качественной лекарственной помощи отдельным категориям граждан
Great attention of the President of the Russian Federation and the Government of the Russian Federation, the Ministry of Health of the Russian Federation to improving the level of provision of high-quality pharmaceutical care to certain categories of citizens
- Постоянный контроль правительства НСО за уровнем оказания льготной лекарственной помощи отдельным категориям граждан
Permanent control of the Government of the Novosibirsk region over the level of provision of preferential pharmaceutical care to certain categories of citizens

- Реализация механизмов государственно-частного партнерства в здравоохранении, в том числе лекарственном обеспечении в НСО
Implementation of public-private partnership mechanisms in healthcare, including drug provision in the Novosibirsk region
- Открытие аптечных организаций федеральными и региональными аптечными сетями в НСО для повышения доступности населению ЛП
Opening of pharmacy organizations by federal and regional pharmacy chains in the Novosibirsk region to increase the availability of medicines to the population
- Организация отпуска ЛП медицинскими работниками через амбулатории в сельских населенных пунктах НСО, в которых отсутствуют аптечные организации, для обеспечения доступности лекарственной помощи сельским жителям
Organization of dispensing of medicines by medical staff through outpatient clinics in rural settlements of the Novosibirsk region, having no pharmacy organizations, to ensure the availability of medical care to rural residents
- Увеличение доли муниципальных районов и городских округов, обеспеченных пунктами отпуска ЛП, по отношению ко всем муниципальным районам и городским округам НСО до 100 %
Increase in the proportion of municipal and urban districts provided with drug dispensing outlets in relation to all municipal and urban districts of the Novosibirsk region up to 100%
- Увеличение доли охвата лекарственным обеспечением отдельных категорий граждан до 100 %
Increasing the rate of coverage of certain categories of citizens with drug provision to 100%
- Организация предоставления государственной услуги по лицензированию фармацевтической деятельности в части приема заявлений и документов отделениями ГАУ НСО «МФЦ» в электронной форме для обеспечения доступности для всех субъектов
Organization of the provision of state services for licensing of pharmaceutical activities in terms of receiving applications and documents by departments of the Multifunctional Centers of the Novosibirsk region in electronic form to ensure accessibility for all subjects
- Расширение перечня ЛП, отпускаемых из ФАП населению НСО
Expansion of the list of medicines dispensed in the medical and obstetric stations to the population of the Novosibirsk region

Угрозы / Threats

- Мировой финансовый кризис, отразившийся на социально-экономическом развитии России и в том числе НСО
Global financial crisis that affected the socio-economic development of Russia, including the Novosibirsk region
- Нарастание кадрового дефицита фармацевтической отрасли
Growing staff shortage in the pharmaceutical industry
- Ухудшение динамики демографических показателей (старение населения, низкая рождаемость, высокая смертность)
Deterioration in the dynamics of demographic indicators (aging of the population, low birth rate, high mortality)
- Государственные гарантии не в полной мере покрывают потребности всех категорий граждан в ЛП при оказании первичной медицинской помощи
State guarantees do not fully cover the needs of all categories of citizens in medicines when providing primary medical care
- Рост общей заболеваемости населения
Growth of the overall morbidity among population
- Снижение реальных доходов населения в условиях инфляции
Decrease in real incomes of the population in the context of inflation
- Увеличение доли граждан, вышедших из программы обеспечения ЛП отдельных категорий граждан, пользующихся льготами при лечении ЛП (88.2 %)
Increase in the proportion of citizens who have withdrawn from the drug provision program for certain categories of citizens eligible for the preferential medicinal treatment (88.2%)
- Сокращение продолжительности и качества жизни граждан в НСО
Decreased life expectancy and quality of life of citizens in the Novosibirsk region
- Сохраняющаяся неблагоприятная эпидемиологическая обстановка в РФ и НСО по заболеваемости коронавирусной инфекцией, которая способствует отвлечению финансовых средств от реализации программ по развитию здравоохранения, в том числе лекарственного обеспечения
The ongoing unfavorable epidemiological situation in the Russian Federation and the Novosibirsk region regarding the incidence of coronavirus infection, which contributes to the diversion of funds from the implementation of healthcare development programs, including drug provision

щения ЛП в городских округах при недостаточной обеспеченности населения аптечными организациями и ФАП в сельских населенных пунктах Новосибирской области.

При оценке возможностей установлено, что реализация программ развития Новосибирской области (с дислокацией аптечных организаций и ФАП для обеспечения населения медицинской и фармацевтической помощью), постоянный контроль правительства Новосибирской области за уровнем оказания льготной лекарственной помощи отдельным категориям граждан, реализация механизмов государственно-частного партнерства в здравоохранении, в том числе лекарственном обеспечении в Новосибирской области, открытие аптечных организаций федеральными и региональными аптечными сетями в Новосибирской области для повышения доступности населению ЛП являются первоочередными.

Угрозами признаны нарастание кадрового дефицита в фармацевтической отрасли, сохраняющаяся неблагоприятная эпидемиологическая обстановка в РФ и Новосибирской области по заболеваемости коронавирусной инфекцией, которая способствует отвлечению финансовых средств от реализации программ по развитию здравоохранения, в том числе лекарственного обеспечения населения.

Данные количественного SWOT-анализа позволили установить, что развитая инфраструктура обеспечения населения фармацевтической помощью в Новосибирской области (0.567); принятие и реализация федеральных программ по стратегии лекарственного обеспечения населения и развитию здравоохранения в РФ и Новосибирской области (0.564) представляют собой сильные стороны фармацевтической помощи, которые в 1.26 раза превышают слабые стороны системы (недостаточное финансирование лекарственного обеспечения населения региона (0.496), недостаточную обеспеченность населения аптечными организациями и ФАП в сельских населенных пунктах Новосибирской области (0.464), неэффективную организацию работы первичного амбулаторно-поликлинического звена по прогнозированию потребности в ЛП в соответствии со стандартами медицинской помощи (0.424)). Возможности (организация отпуска ЛП медицинскими работниками через амбулатории в сельских населенных пунктах НСО, в которых отсутствуют аптечные организации, для обеспечения доступности лекар-

The threats are the growing staff shortage in the pharmaceutical industry, the ongoing unfavorable epidemiological situation in the Russian Federation and the Novosibirsk region with regard to the incidence of coronavirus infection, which contributes to the diversion of funds from the implementation of programs for the development of healthcare, including drug provision to the population.

The data of a quantitative SWOT analysis allowed us to establish that the developed infrastructure of providing the population with pharmaceutical care in the Novosibirsk region (0.567); the approval and implementation of federal programs on the strategy of drug provision to the population and the development of healthcare in the Russian Federation and the Novosibirsk region (0.564) represent the strengths of pharmaceutical care, which by 1.26 times exceed the weaknesses of the system (insufficient funding of drug provision to the population of the region (0.496), insufficient provision of the population with pharmacy organizations and medical and obstetric stations in rural settlements of the Novosibirsk region (0.464), inefficient organization of work of the primary outpatient clinic to predict the need for medicines in accordance with the standards of medical care (0.424)). Opportunities (organization of dispensing of medicines by medical staff through out-patient clinics in rural settlements of the Novosibirsk region, having no pharmacy organizations, to ensure the availability of medical care to rural residents (0.378); the increase in the proportion of municipal and urban districts provided with medicines dispensing outlets in relation to all municipal and urban entities of the Novosibirsk region to 100% (0.323)) by 1.13 times prevails over threats related, inter alia, to the fact that state guarantees do not fully cover the needs of all categories of citizens in medicines when providing primary medical care.

Table 2 presents the results of the summary quantitative SWOT analysis of pharmaceutical care in the Novosibirsk region.

The performed analysis indicates the need to develop measures to eliminate potential threats and use the resource potential of pharmaceutical care in the Novosibirsk region.

CONCLUSION

Pharmaceutical care to the population of the Novosibirsk region is characterized by the predominance of strengths over weaknesses, while potential opportunities exceed threats. It follows from this that it is necessary to further improve pharmaceutical care, use its resource capabilities and furtherance its strengths.

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

Таблица 2. Результаты сводного количественного SWOT-анализа фармацевтической помощи в Новосибирской области**Table 2.** Results of the summary quantitative SWOT analysis of pharmaceutical care in the Novosibirsk region

Параметр / Parameter	Сводный параметрический индекс Summary parametric index	Ранг / Rank
Сильные стороны / Strengths	2.421	2
Слабые стороны / Weaknesses	1.922	4
Возможности / Opportunities	2.991	1
Угрозы / Threats	2.651	3

ственной помощи сельским жителям (0.378); увеличение доли муниципальных районов и городских округов, обеспеченных пунктами отпуска ЛП, по отношению ко всем муниципальным районам и городским округам Новосибирской области до 100 % (0.323) в 1.13 раза преобладают над угрозами, связанными в том числе с тем, что государственные гарантии не в полной мере покрывают потребности всех категорий граждан в ЛП при оказании первичной медицинской помощи.

В табл. 2 представлены результаты сводного количественного SWOT-анализа фармацевтической помощи в Новосибирской области.

Проведенный анализ свидетельствует о необходимости разработки мероприятий по устране-

нию потенциальных угроз и использованию ресурсных возможностей лекарственной помощи в Новосибирской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фармацевтическая помощь населению Новосибирской области характеризуется преобладанием сильных сторон над слабыми, при этом потенциальные возможности превышают угрозы. Из этого следует, что необходимо дальнейшее совершенствование фармацевтической помощи, использование ее ресурсных возможностей и укрепление сильных сторон.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Об утверждении стандарта развития конкуренции в субъектах Российской Федерации: распоряжение правительства РФ от 17.04.2019 № 768-р. URL: <https://docs.cntd.ru/document/554275838> (дата обращения: 29.12.2021).
2. Об утверждении Положения об организации оказания первичной медико-санитарной помощи взрослому населению: приказ Минздравсоцразвития России от 15.05.2012 № 543н (ред. от 21.02.2020). URL: <https://docs.cntd.ru/document/902355054> (дата обращения: 29.12.2021).
3. Джупарова И.А. Разработка методики SWOT-анализа системы обеспечения необходимыми лекарственными средствами на региональном уровне // Медицина и образование в Сибири. 2015;4:12.
4. Спичак И.В., Дерезлазова Ю.С. Анализ стратегического потенциала фармацевтической помощи детям с заболеваниями суставов // Науч. вед. Белгородск. гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2012;10(129),18/4:60–65.
5. Спичак И.В., Дерезлазова Ю.С. Совершенствование фармацевтической помощи детям с заболеваниями суставов на территории Белгородской области // Науч. вед. Белгородск. гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2013;11(154),22/2:64–70.
6. Решетников А.В. Социология медицины. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 864 с. URL: <https://www.ros->

REFERENCES

1. On approval of the standard for the development of competition in the subjects of the Russian Federation: Decree of the Government of the Russian Federation dated 17.04.2019 No. 768-R. URL: <https://docs.cntd.ru/document/554275838> (accessed 29.12.2021).
2. On approval of the Regulations on the organization of primary health care for adults: Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated 15.05.2012 No. 543n (ed. dated 21.02.2020). URL: <https://docs.cntd.ru/document/902355054> (accessed 29.12.2021).
3. Dzhuparova I.A. Development of SWOT-analysis technique of necessary medical agents at regional level. *Medicine and Education in Siberia*. 2015;4:12. (In Russ.)
4. Spichak I.V., Dereglazova Yu.S. Building a strategic analysis of pharmaceutical care for children with diseases of joints. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2012;10(129),18/4:60–65. (In Russ.)
5. Spichak I.V., Dereglazova Yu.S. Improvement of pharmaceutical care to children with diseases of joints in the Belgorod region. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2013;11(154),22/2:64–70. (In Russ.)
6. Reshetnikov A.V. (2014). *Sociology of Medicine*. Moscow: GEOTAR-Media. 864 p. URL: <https://www.ros->

rosmedlib.ru/book/ISBN9785970430675.html (дата обращения: 30.12.2021).

7. Spichak I.V., Dereglazova Ju.S., Petrovskaya T.Yu. Optimization of information support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy // *Research Result. Medicine and Pharmacy Series*. 2015;1,4(6):87–90. doi: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-87-90.
8. Спичак И.В., Дерезлазова Ю.С., Петровская Т.Ю. Анализ ассортимента УНК «Аптеки БелГУ» по лекарственным средствам для лечения ювенильного артрита // *Науч. результат. Серия: Медицина и фармация*. 2016;2(2):62–65. doi: 10.18413/2313-8955-2016-2-2-62-65.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Джупаров Александр Сергеевич – аспирант, преподаватель кафедры управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Джупарова Ирина Алексеевна – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Ибрагимова Гузель Ярулловна – д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия.

medlib.ru/book/ISBN9785970430675.html (accessed 30.12.2021).

7. Spichak I.V., Dereglazova Ju.S., Petrovskaya T.Yu. Optimization of information support for pharmacies in the field of pharmaceutical aid to children with arthropathy. *Research Result. Medicine and Pharmacy Series*. 2015;1,4(6):87–90. doi: 10.18413/2313-8955-2015-1-4-87-90.
8. Spichak I.V., Dereglazova Yu.S., Petrovskaya T.Yu. Analysis of the BSU pharmacy's assortment of medicines for treatment of juvenile arthritis. *Research Result. Medicine and Pharmacy Series*. 2016;2(2):62–65. doi: 10.18413/2313-8955-2016-2-2-62-65. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Alexandr S. Dzhuparov – Post-graduate Student, Lecturer, Department of Management and Economics of Pharmacy, Medical and Pharmaceutical Commodity Science, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Irina A. Dzhuparova – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Head, Department of Management and Economics of Pharmacy, Medical and Pharmaceutical Commodity Science, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Guzel Ya. Ibragimova – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmacy Management and Economics, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia.

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);

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); 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 предоставляются 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 ее 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.

ISSN 2542-1174



9 772542 117003