



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

Vol.6  
2022 **2**

**OPEN  
ACCESS**

# JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 6, № 2 (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 Реджо-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](mailto:rector@ngmu.ru), Web: [www.ngmu.ru](http://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](mailto: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**

*Алябьев 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. 2 (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](mailto:rector@ngmu.ru), Web: [www.ngmu.ru](http://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](mailto: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. Voynoyasenetsky (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. Voynoyasenetsky (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

- Каретникова А.Ю., Шереметьева А.С., Дурнова Н.А.** Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови . . . . . 7
- Арчибасова Е.А., Куликов В.Ю., Воевода М.И.** Значение опережающей реакции вегетативной нервной системы в условиях когнитивной нагрузки у условно здоровых студентов. . . . . 18
- Марьюшкина В.С., Абросимова О.Н., Куваева Е.В., Ладутько Ю.М.** Разработка гранулята на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью. . . . . 28
- Левченко Ю.С., Никель В.В., Ефремова В.П.** Соматотипологические особенности вегетативной регуляции у девочек подросткового возраста г. Красноярск . . . . . 42
- Бахарева Ю.С., Максимов В.Н., Чапаева Н.Н.** Генетические аспекты неинфекционного эндокардита у пациентов с антифосфолипидным синдромом. . . . . 51
- Абышев А.А., Надеев А.П., Дудин М.А., Логинова А.Б.** Структурные изменения в печени мышей при БЦЖ-гранулематозе и применении окисленного декстрана в возрастной динамике. . . . . 62
- фон Фингергут Г., Мезуро А., Макаров К.Ю., Ким Ю.О., Кондюрина Е.Г., Яковлева Л.А.** Влияние умеренного употребления алкоголя на здоровье пожилых россиян: исследование в отношении количества алкоголя, рекомендованного для населения Японии . . . . . 74
- Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С.** Инотропные эффекты изолированного сердца крысы при коронарной перфузии иммобилизованными субтилизинами . . . . . 96
- Кинит Д.А., Маринкин И.О., Соболева М.К.** Влияние фактора многоплодия при индуцированной беременности на перинатальные исходы . . . . . 108
- Пащикова Л.В., Ивановская Е.А., Лигостаев А.В.** Разработка методики определения амфотерицина В спектрофотометрическим методом в биологических средах. . . . . 122

### ОБЗОРЫ

- Воропаева Е.Н., Карпова В.С., Поспелова Т.И., Максимов В.Н., Воронцова Е.В.** Современные представления о роли гематоэнцефалического барьера в развитии лимфом центральной нервной системы. . . . . 131

---

## CONTENTS

---

---

### ORIGINAL RESEARCHES

---

- Karetnikova A.Yu., Sheremetyeva A.S., Durnova N.A.** Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of biochemical blood parameters under their influence . . . . . 7
- Archibasova E.A., Kulikov V.Yu., Voevoda M.I.** Autonomic nervous system antedating response significance in the apparently healthy students under conditions of cognitive load . . . . . 18
- Mar'yushkina V.S., Abrosimova O.N., Kuvaeva E.V., Ladutko Yu.M.** Development of a granulate based on amidines with anti-inflammatory activity . . . . . 28
- Levchenko Yu.S., Nickel V.V., Efremova V.P.** Somatotype features of autonomic regulation in adolescent girls in Krasnoyarsk . . . . . 42
- Bakhareva Yu.S., Maksimov V.N., Chapaeva N.N.** Genetic aspects of non-infectious endocarditis in patients with antiphospholipid syndrome . . . . . 51
- Abyshev A.A., Nadeev A.P., Dudin M.A., Loginova A.B.** Structural changes in the liver of mice with BCG granulomatosis and the use of oxidized dextran in age dynamics . . . . . 63
- von Fingerhut G., Meguro A., Makarov K.Yu., Kim Yu.O., Kondyurina E.G., Yakovleva L.A.** Effects of moderate alcohol consumption on the health of elderly Russians: a study in reference to the amount recommended to the population of Japan . . . . . 75
- Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S.** Inotropic effects of an isolated rat heart under the coronary perfusion with immobilized subtilisins . . . . . 96
- Kinsht D.A., Marinkin I.O., Soboleva M.K.** The effect of multiple gestation on perinatal outcomes in assisted reproductive technology pregnancy . . . . . 109
- Pashkova L.V., Ivanovskaya E.A., Ligostaev A.V.** Development of a technique for amphotericin B determination by spectrophotometric method in biological fluids. . . . . 122

---

### REVIEWS

---

- Voropaeva E.N., Karpova V.S., Pospelova T.I., Maksimov V.N., Vorontsova E.V.** Current research on the role of the blood-brain barrier in the central nervous system lymphomas development . . . . . 131

## Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови

А.Ю. Каретникова, А.С. Шереметьева, Н.А. Дурнова

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Поиск новых фармакологических средств обосновывается потребностью в препаратах, обладающих высокой эффективностью наряду с малой токсичностью. Особый интерес представляют вещества с минимальными побочными эффектами, к которым относятся средства растительного происхождения. Необходимым этапом доклинической разработки новых лекарственных средств является оценка их безопасности, в частности, исследование токсичности.

**Ц е л ь .** Определить уровень токсичности извлечений тимьяна Маршалла и изучить их влияние на биохимические показатели крови мышей при многократном введении.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** Токсичность извлечений тимьяна Маршалла определяли с помощью пробит-анализа. Эксперимент проведен на 24 мышках-самках: три опытные группы и контрольная (интактные). Опытным группам однократно внутрибрюшинно вводили извлечения тимьяна Маршалла в дозах 1000, 3000, 5000 мг/кг (в пересчете на густой экстракт). Изучение влияния извлечений тимьяна Маршалла на биохимические показатели крови проведено на 24 мышках-самках: три опытные группы и контрольная (интактные). Опытные группы в течение 21 сут эксперимента ежедневно внутрижелудочно получали питьевую воду, спиртовое и водное извлечения тимьяна Маршалла в дозе 100 мг/кг. Определяли содержание в образцах крови глюкозы, холестерина, мочевины, общего билирубина, креатинина, общего белка, альбумина, аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ).

**Р е з у л ь т а т ы .** По классификации токсичности химических веществ спиртовое извлечение тимьяна Маршалла относится к малотоксичным веществам. Введение водного извлечения тимьяна Маршалла приводило к достоверному снижению уровня глюкозы, альбуминов, общего билирубина и мочевины, а также снижению активности АЛТ. Содержание холестерина, общего белка, креатинина, а также активность ЩФ и ЛДГ достоверно не отличались от показателей контрольной группы. При введении спиртового извлечения тимьяна Маршалла наблюдалось увеличение содержания общего белка и активности АЛТ, АСТ, ЩФ и снижение уровня общего билирубина и мочевины по сравнению с контрольной группой. Содержание глюкозы, холестерина, альбуминов, креатинина и активность ЛДГ оставались в пределах значений контрольной группы.

**З а к л ю ч е н и е .** Результаты проведенного исследования не выявили существенных изменений в биохимических показателях крови мышей при введении извлечений тимьяна Маршалла, что подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья.

**Ключевые слова:** *Thymus marschallianus* Willd., тимьян, извлечение, биохимические показатели.

**Образец цитирования:** Каретникова А.Ю., Шереметьева А.С., Дурнова Н.А. Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):7–17. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-7-17

## Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of blood biochemical parameters under their influence

A.Yu. Karetnikova, A.S. Sheremetyeva, N.A. Durnova

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** The search for new pharmacological agents is justified by the need for drugs with high efficiency along with low toxicity. The substances with minimal side effects, which include herbal remedies, are of particular interest.

Поступила в редакцию 07.10.2021  
Прошла рецензирование 14.12.2021  
Принята к публикации 15.01.2022

Автор, ответственный за переписку  
Шереметьева Анна Сергеевна: ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России. 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.  
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Received 07.10.2021  
Revised 14.12.2021  
Accepted 15.01.2022

Corresponding author  
Anna S. Sheremetyeva: Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, 112, Bolshaya Kazachia str., Saratov, 410012, Russia.  
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

The assessment of safety, and study of toxicity of new medicines in particular, is a necessary stage of their preclinical development.

**A i m .** To determine the toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and study their effect on the biochemical parameters of mice with repeated administration.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts was determined by probit analysis. The experiment was carried out on 24 female mice: three experimental groups and a control group (intact). The animals of experimental groups got a single intraperitoneal injection with *Thymus marschallianus* Willd. extracts at doses of 1000, 3000, 5000 mg/kg (in terms of thick extract) respectfully. The study of the effect of *Thymus marschallianus* Willd. extracts on blood biochemical parameters was carried out on 24 male mice: three experimental groups and a control group (intact). The experimental groups received drinking water, ethanol and aqueous extracts of *Thymus marschallianus* Willd. intragastrically at a dose of 100 mg/kg daily for 21 days of the experiment. The content of glucose, cholesterol, urea, total bilirubin, creatinine, total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) in blood samples was determined.

**R e s u l t s .** According to the classification of toxicity of chemicals, an ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd. belongs to low-toxic substances. The administration of an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd. led to a significant decrease in glucose, albumin, total bilirubin and urea, as well as a decrease in ALT activity. The content of cholesterol, total protein, creatinine, as well as the activity of ALP and LDH did not significantly differ from the indicators of the control group. With the administration of an ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd., there was an increase in the total protein content and activity of ALT, AST, ALP and a decrease in the level of total bilirubin and urea compared with the control group. The content of glucose, cholesterol, albumin, creatinine and LDH activity remained within the control group values.

**C o n c l u s i o n .** The results of the study did not reveal significant changes in the biochemical parameters of the blood of mice with the administration of *Thymus marschallianus* Willd. extracts, which confirms the safety of the use of extracts from this type of plant raw materials.

**Keywords:** *Thymus marschallianus* Willd., thyme, extract, biochemical parameters.

**Citation example:** Karetnikova A.Yu., Sheremetyeva A.S., Durnova N.A. Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of biochemical blood parameters under their influence. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):7–17. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-7-17

## ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых фармакологических веществ, в том числе и растительного происхождения, обосновывается потребностью в препаратах, обладающих высокой эффективностью наряду с малой токсичностью [1, 2]. Однако при изучении биологически активных веществ, содержащихся в растительном сырье, может выявляться их токсический эффект [3]. Необходимым этапом доклинической разработки новых лекарственных средств является оценка их безопасности, в частности, исследование острой токсичности и определение переносимых, токсических и летальных доз [4]. У водных и спиртовых извлечений травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) выявлены антимикробные, отхаркивающие, противовоспалительные, антиоксидантные и другие свойства [5, 6], которые обуславливают богатый химический состав растительного сырья (эфирное масло, фенольные и тритерпеновые соединения, полисахаридные комплексы, минеральные элементы, аминокислоты, карбоновые кислоты) [5, 7]. Однако эксперименты по определению острой токсичности были проведены только для водных

## INTRODUCTION

The search for new pharmacological substances, including those of plant origin, is justified by the need for drugs with high efficiency along with low toxicity [1, 2]. However, when studying biologically active substances contained in plant raw materials, their toxic effect can be detected [3]. A necessary stage in the preclinical development of new drugs is the assessment of their safety, in particular, the study of acute toxicity and the determination of tolerated, toxic and lethal doses [4]. In water and alcohol extracts of *Thymus marschallianus* Willd. antimicrobial, expectorant, anti-inflammatory, antioxidant and other properties have been identified [5, 6], which are determined by the rich chemical composition of vegetable raw materials (essential oil, phenolic and triterpene compounds, polysaccharide complexes, mineral elements, amino acids, carboxylic acids) [5, 7]. However, experiments to determine an acute toxicity were carried out only for aqueous extracts (infusions) of *Thymus marschallianus* Willd. herb in the concentration range of 2000–5000 mg/kg (animal deaths were not noted during the entire observation period) [5]. No data

извлечений (настоев) из травы тимьяна Маршалла в диапазоне концентраций 2000–5000 мг/кг (гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечали) [5]. Для спиртовых извлечений из травы тимьяна Маршалла данных об острой токсичности ранее получено не было.

Параметры, установленные в результате изучения острой токсичности, не позволяют оценить длительное влияние потенциальных фармакологических веществ на организм. Оценить такое влияние возможно, в частности, по изменению биохимических показателей крови, при этом такие эксперименты позволяют оценивать общее физиологическое состояние организма и характер возможных токсических эффектов при повторном введении исследуемых веществ. Изучение влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на биохимические параметры крови ранее не проводилось.

Определение уровня токсичности в остром эксперименте и исследование влияния на биохимические показатели крови извлечений из травы тимьяна Маршалла позволит оценить их безопасность.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить уровень токсичности извлечений тимьяна Маршалла и изучить их влияние на биохимические показатели крови мышей при многократном введении.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты *in vivo* были проведены в соответствии с Женевской конвенцией (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals) (Geneva, 1990), Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным (2000 г.), а также рекомендациями комитета по этике Саратовского государственного медицинского университета им. Разумовского (протокол № 4 от 1 декабря 2020 г.). Экспериментальные исследования проведены на беспородных белых мышах (масса 30–40 г, возраст 2–3 мес). Животные содержались в виварии при постоянной температуре (23–25 °C) и влажности воздуха, со свободным доступом к воде и пище.

Перед проведением эксперимента по изучению биохимических параметров крови определяли острую токсичность спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла с целью сравнения результатов с данными, полученными Ю.А. Старчак [5] для настоя. Эксперимент по изучению острой токсичности проведен на 24 мышах-самках (подробная схема эксперимента приведена в [4]). Животные были разделены на

on acute toxicity has been previously obtained for alcohol extracts of *Thymus marschallianus* Willd. herb.

The parameters established as a result of the study of acute toxicity do not allow us to assess the long-term effect of potential pharmacological substances on the body. It is possible to assess such an effect, in particular, by changing the biochemical parameters of the blood, while such experiments allow us to assess the general physiological state of the body and the nature of possible toxic effects with repeated administration of the substances under study. The effect of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus marschallianus* Willd. on the biochemical parameters of blood has not been studied previously.

Determining the toxicity level in an acute experiment and studying the effect on the blood biochemical parameters of the *Thymus marschallianus* Willd. herb extracts will allow to assess their safety.

## AIM OF THE RESEARCH

To determine the level of toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and to study their effect on the blood biochemical parameters of mice with repeated administration.

## MATERIALS AND METHODS

The *in vivo* experiments were conducted in accordance with the Geneva Convention (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals) (Geneva, 1990), the Helsinki Declaration on Humane Treatment of Animals (2000), as well as the recommendations of the Ethics Committee of the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky (Protocol No. 4 of December 1, 2020). Experimental studies were conducted on white outbred mice (weight 30–40 g, age 2–3 months). The animals were kept in a vivarium at a constant temperature (23–25 °C) and humidity, with free access to water and food.

Before conducting an experiment to study the biochemical parameters of blood, the acute toxicity of ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. herb was determined in order to compare the results with the data obtained by Yu.A. Starchak [5] for the infusion. An experiment to study acute toxicity was conducted on 24 female mice (a detailed scheme of the experiment is given in [4]). The animals were divided into 4 groups (6 individuals each): control (intact animals) and 3 experimental (receiving ethanol extract of *Thymus marschallianus* Willd.). Toxicity parameters were determined using probit analysis by the V.B. Prozorovsky method [8].

4 группы (по 6 особей в каждой): контрольную (интактные животные) и 3 опытные (получавшие спиртовое извлечение тимьяна Маршалла). Параметры токсичности определяли с помощью пробит-анализа методом В.Б. Прозоровского [8]. Извлечения тимьяна вводили животным однократно внутривентриально в дозах 1000, 3000, 5000 мг/кг (в пересчете на густой экстракт) в объеме 1.0 мл на 40 г массы тела. На протяжении следующих двух недель проводили контроль состояния лабораторных животных, в первые сутки исследования он осуществлялся непрерывно. После введения исследуемых извлечений отмечали особенности поведения мышей, интенсивность и характер двигательной активности, нарушения координации движений.

Исследование биохимических параметров крови проведено на 24 мышках-самцах. Животные были разделены на 4 группы – контрольную и три опытные (по 6 особей в каждой). Опытные группы в течение 21 сут эксперимента ежедневно внутривентриально получали питьевую воду (1-я опытная группа), водное извлечение тимьяна Маршалла (2-я опытная группа) и спиртовое извлечение тимьяна Маршалла (3-я опытная группа) в дозе 100 мг/кг (для исследования выбрана указанная доза, так как ранее извлечения в данной дозировке показали антимикробную [6] и противоопухолевую активность [9]). Контрольная группа воздействию не подвергалась.

Объектом исследования послужила измельченная трава тимьяна Маршалла, собранная в окрестностях г. Саратова в июне-июле 2020 г. в фазе цветения. Определение вида проводилось по ключу В.Н. Гладковой и Ю.Л. Меницкого [10] и подтверждено ведущим специалистом по флоре Саратовской области – д-ром биол. наук, профессором М.А. Березуцким. Сырье сушили в сухом, хорошо проветриваемом месте, затем измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Извлечения из указанного растительного материала были приготовлены двумя способами: первый – согласно требованиям Государственной фармакопеи (ГФ) XIV изд-я, ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» (экстрагент – вода) [11], а затем полученное извлечение упаривали до состояния густого экстракта; второй – согласно запатентованной методике: двукратную экстракцию проводили 95% этиловым спиртом, упаривали и очищали хлороформом, затем полученную водную фракцию снова упаривали до состояния густого экстракта [12]). Доведение водных и спиртовых извлечений до состояния густого экс-

*Thymus marschallianus* Willd. extracts were administered to animals once intraperitoneally at doses of 1000, 3000, 5000 mg/kg (in terms of thick extract) in a volume of 1.0 ml per 40 g of body weight. Over the next two weeks, the condition of laboratory animals was monitored, and on the first day of the study it was carried out continuously. After administration of the studied extracts, the peculiarities of mouse behavior, intensity and type of motor activity, and movement coordination disorders were noted.

The study of blood biochemical parameters was carried out on 24 male mice. The animals were divided into 4 groups – a control group and three experimental ones (6 individuals each). During 21 days of the experiment, the animals of the experimental groups on a daily basis received intragastrically drinking water (1st experimental group), aqueous *Thymus marschallianus* Willd. extract (2nd experimental group), and ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. (3rd experimental group) at a dose of 100 mg/kg (the indicated dose was chosen for the study, since earlier, the extraction have shown an antimicrobial [6] and antitumor activity at this dosage [9]). The control group was not exposed.

The object of the study was crushed Marshall thyme herb collected in the vicinity of Saratov in June-July 2020 at the flowering phase. The identification of the species was carried out according to the key of V.N. Gladkova and Yu.L. Menitsky [10] and confirmed by the leading specialist in the flora of the Saratov region – Doctor of Biological Sciences, Professor M.A. Berezutsky. The raw materials were dried in a dry, well-ventilated place, then crushed to particles passing through a sieve with holes of 2 mm in size.

Extracts from the specified plant material were prepared in two ways: the first – according to the requirements of the State Pharmacopoeia (SPH) of the XIV edition, GP (General Monograph) 1.4.1.0018.15 Infusions and Decoctions (extractant – water) [11], and then the resulting extraction was evaporated to the state of a thick extract; the second – according to a patented technique: a two-fold extraction was carried out with 95% ethyl alcohol, after evaporation and purification with chloroform, the resulting aqueous fraction was again evaporated to the state of a thick extract [12]. Bringing water and alcohol extracts to the state of a thick extract made it possible to obtain the residue of the target products with a known mass and to further determine their exact concentration, and calculate the exact dosage for each animal in the experiment.

тракта позволило получить остаток целевых продуктов с известной массой и в дальнейшем определять их точную концентрацию и рассчитывать точную дозировку для каждого животного в эксперименте.

Во время проведения указанного эксперимента для изучения одного из эндотипов депрессии выполняли тест «подвешивание за хвост». Животных из эксперимента выводили на 21-е сутки путем внутривентрального введения комбинации золетила (Virbac, Франция) и ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0.1 мг/кг. Забор крови проводили пункцией из правых отделов сердца. В качестве антикоагулянта использовался 0.2% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Полученную кровь центрифугировали со скоростью 3000 об./мин в течение 20 мин (центрифуга СМ-6) для получения плазмы, которую в дальнейшем подвергали фотометрическому анализу на полуавтоматическом анализаторе Vitalon-400 (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd., Китай) с использованием стандартных наборов реактивов (Витал Диагностик СПб, Россия).

При исследовании определяли содержание в образцах следующих метаболитов: глюкозы, холестерина, мочевины, общего билирубина, креатинина, общего белка, альбумина. Также производилась оценка концентрации в плазме таких ферментов, как аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), щелочная фосфатаза (ЩФ).

На основе полученных результатов оценивали белково-синтезирующую функцию печени (общий белок, альбумины), нарушения функционального состояния печени (АСТ, АЛТ, ЩФ, уровень общего билирубина, холестерина), сердца (АСТ, ЛДГ), почек (уровень креатинина, мочевины), состояние углеводного обмена (уровень глюкозы).

Обработка полученных данных осуществлялась при помощи прикладных статистических программ Statistica 12 (StatSoft Inc., США). Для всех показателей определяли медиану и квартили (25-й и 75-й). Для оценки значимости различий применяли *U*-критерий Манна – Уитни. Значимым считали результаты при значении  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании токсичности спиртового извлечения тимьяна Маршалла в дозе 1000 мг/кг не отмечали признаков острого отравления. С увеличением дозы (3000 и 5000 мг/кг) снижения двигательной активности, увеличения частоты дыхательных движений не наблюдали, гибели животных зарегистрировано не было. На

During this experiment, the tail suspension test was performed to study one of the endophenotypes of depression. Animals were taken out of the experiment on the 21st day by intraperitoneal administration of a combination of Zoletil (Virbac, France) and Xylanite (Nita-Farm, Russia) at a dose of 0.1 mg/kg. Blood sampling was carried out by puncture from the right heart. A 0.2% sodium citrate solution in the ratio of 9:1 was used as an anticoagulant. The resulting blood was centrifuged at a speed of 3000 rpm for 20 min (CM-6 centrifuge) to produce plasma, which has subsequently undergone a photometric analysis on a semi-automatic Vitalon-400 analyzer (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd., China) using standard reagent kits (Vital Diagnostics SPb, Russia).

During the study, the content of the following metabolites in the samples was determined: glucose, cholesterol, urea, total bilirubin, creatinine, total protein, albumin. Plasma concentrations of such enzymes as aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) were also evaluated.

Based on the results obtained, the function of protein synthesis of the liver (total protein, albumins), disorders of the functional state of the liver (AST, ALT, alkaline phosphatase, total bilirubin, cholesterol), heart (AST, LDH), kidneys (creatinine, urea), the state of carbohydrate metabolism (glucose level) were evaluated.

The data obtained were processed using Statistica 12 (StatSoft Inc., USA) statistical software applications. Median and quartiles (25th and 75th) were determined for all parameters. The Mann-Whitney *U*-test was used to assess the significance of the differences. The results were considered significant at a value of  $p < 0.05$ .

## RESULTS

When studying the toxicity of ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd. at a dose of 1000 mg/kg, no signs of acute poisoning were noted. With an increase in the dose (up to 3000 and 5000 mg/kg), a decrease in motor activity, an increase of respiratory rate were not observed, no animal deaths were recorded. On the 2nd day, the animals had no signs of intoxication. The half-lethal dose (LD50) was not established in the experiment, since the administration of the maximum dose used (5000 mg/kg) for ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. herb did not cause death of animals. According to the toxicity classification of chemicals (GOST 12.1.007-76), the studied ethanol extraction

2-е сутки признаков интоксикации у животных отмечено не было. Полулетальная доза ( $LD_{50}$ ) в эксперименте не установлена, так как введение максимальной дозы, использованной в эксперименте (5000 мг/кг) для спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла, не вызвало гибели животных. Исследуемое спиртовое извлечение относится по классификации токсичности химических веществ (ГОСТ 12.1.007-76) к IV классу токсичности (малотоксичные вещества).

При изучении биохимических показателей крови было установлено, что у первой опытной группы, получавшей питьевую воду, отмечали достоверный рост активности трансаминаз – АЛТ и АСТ превышали контрольные значения у животных контрольной группы почти в два раза (табл. 1). Также наблюдали статистически значимое увеличение активности щелочной фосфатазы на 32.6 % и лактатдегидрогеназы на 35.2 %. Содержание общего белка достоверно снижалось на 18.9 %. Уровень креатинина, общего билирубина, альбумина оставался в пределах значений группы контроля. Была отмечена тенденция к снижению содержания мочевины (на 40.4 %), глюкозы (на 18 %) и холестерина (на 27.3 %).

У второй опытной группы, получавшей водное извлечение тимьяна Маршалла, наблюдали достоверное снижение уровня глюкозы по сравнению с контролем, первой и третьей опытными группами на 33, 18.3 и 35.3 % соответственно. Было установлено достоверное снижение уровня альбуминов по сравнению с контролем на 5.5 %, по отношению к первой и третьей опытным группам достоверных изменений не отмечалось. Содержание общего билирубина достоверно снижалось по сравнению с контролем (на 47.6 %) и первой опытной группой (на 47.6 %), по отношению к третьей имелась тенденция к снижению (на 19.3 %). Содержание мочевины достоверно снижалось по сравнению с контролем (на 54.2 %), по отношению к первой (на 23.1 %) и третьей (на 5.5 %) опытным группам отмечалось недостоверное снижение показателей. Активность АЛТ по сравнению с исследуемыми группами изменялась следующим образом: по сравнению с контролем статистически значимо увеличивалась на 19.9 %, по отношению к первой и третьей опытной группе снижалась недостоверно. Активность АСТ недостоверно увеличивалась по сравнению с контролем на 38.6 % и снижалась на 28 и 52.5 % соответственно по отношению к первой и третьей опытной группе. Активность щелочной фосфатазы по сравнению с контролем имела тенденцию к незначительному повышению на 3.4 %, по

belongs to the IV toxicity class (low-toxic substances).

When evaluating the biochemical parameters of blood, it was found that in the first experimental group receiving drinking water, there was a significant increase in the activity of transaminases – ALT and AST exceeded the control values in animals of the control group by almost two times (Table 1). A statistically significant increase in the activity of alkaline phosphatase by 32.6% and lactate dehydrogenase by 35.2% was also observed. The total protein content significantly decreased by 18.9%. The level of creatinine, total bilirubin, and albumin remained within the control group values. There was a tendency to decrease in the content of urea (by 40.4%), glucose (by 18%) and cholesterol (by 27.3%).

In the second experimental group, which received an aqueous extraction of *Thymus marschallianus* Willd., a significant decrease in the glucose level was observed as compared to the control, first and third experimental groups by 33, 18.3 and 35.3%, respectively. A significant decrease in the level of albumins compared to the control by 5.5% was found, no significant changes were observed in relation to the first and third experimental groups. The content of total bilirubin significantly decreased in comparison with the control (by 47.6%) and the first experimental group (by 47.6%), there was a tendency to decrease in relation to the third group (by 19.3%). The urea content significantly decreased in comparison with the control (by 54.2%); in relation to the first (by 23.1%) and the third (by 5.5%) experimental groups, an insignificant decrease was noted. The ALT activity has changed as follows: in comparison with the control, it increased significantly by 19.9%, as compared to the first and third experimental groups, it decreased insignificantly. The AST activity increased insignificantly by 38.6% compared to the control, and decreased by 28 and 52.5%, respectively, in relation to the first and third experimental groups. The activity of alkaline phosphatase in comparison with the control tended to slightly increase by 3.4%, in relation to the first and third experimental groups, this parameter significantly decreased by 22 and 26.7%, respectively. The LDH activity tended to increase by 6.8% compared to the control, and significantly decreased by 21% compared to the first group, decreased insignificantly by 9.2% in relation to the third group. The cholesterol level tended to decrease in relation to all study groups (by 33.3, 8.3 and 14.8%). The total protein content tended to decrease compared to the control (by 12.2%) and third experimental group (by 44.9%),

**Таблица 1.** Биохимические показатели крови мышей при многократном введении извлечений тимьяна Маршалла  
**Table 1.** Biochemical blood parameters of mice with repeated administration of *Thymus marschallianus* Willd. extracts

Показатель Parameter	Контрольная группа Control group	Первая опытная группа (вода) 1st experimental group (water)	Вторая опытная группа (водное извлечение тимьяна, 100 мг/кг) 2nd experimental group ( <i>Thymus marschallianus</i> Willd. water extract, 100 mg/kg)	Третья опытная группа (спиртовое извлечение тимьяна, 100 мг/кг) 3rd experimental group ( <i>Thymus marschallianus</i> Willd. ethanol extract, 100 mg/kg)
Глюкоза (ммоль/л) Glucose (mmol/l)	4.48 (3.49; 7.32)	3.67 (3.29; 4.50) $p_1 = 0.172974$	3.0 (2.85; 3.22) $p_1 = 0.001920$ $p_2 = 0.044952$ $p_3 = 0.044952$	4.06 (3.97; 4.37) $p_1 = 0.663629$ $p_2 = 0.376804$
Холестерин (ммоль/л) Cholesterol (mmol/l)	1.32 (0.76; 1.59)	0.96 (0.84; 1.0) $p_1 = 0.111414$	0.88 (0.73; 1.12) $p_1 = 0.111414$ $p_2 = 0.748348$ $p_3 = 0.422528$	1.01 (0.87; 1.20) $p_1 = 0.369593$ $p_2 = 0.422528$
Альбумин (г/л) Albumin (g/l)	17.75 (15.47; 18.76)	17.74 (14.84; 21.96) $p_1 = 0.424284$	16.77 (11.17; 18.43) $p_1 = 0.000034$ $p_2 = 0.283977$ $p_3 = 0.688920$	17.59 (12.95; 20.44) $p_1 = 0.369593$ $p_2 = 0.720985$
Общий белок (г/л) Total protein (g/l)	35.55 (26.77; 38.07)	28.84 (27.46; 31.23) $p_1 = 0.022225$	31.23 (26.44; 52.94) $p_1 = 0.839446$ $p_2 = 0.575173$ $p_3 = 0.297953$	45.27 (42.54; 52.61) $p_1 = 0.000572$ $p_2 = 0.005075$
АЛТ (ЕД/л) ALT (U/l)	12.53 (9.31; 13.51)	23.17 (14.58; 30.20) $p_1 = 0.000237$	15.03 (14.49; 17.47) $p_1 = 0.002161$ $p_2 = 0.174736$ $p_3 = 0.100413$	21.97 (17.37; 22.45) $p_1 = 0.000093$ $p_2 = 0.688920$
АСТ (ЕД/л) AST (U/l)	49.19 (37.28; 70.26)	94.67 (73.35; 182.85) $p_1 = 0.000882$	68.18 (61.76; 73.63) $p_1 = 0.067251$ $p_2 = 0.017672$ $p_3 = 0.014851$	103.96 (90.04; 125.47) $p_1 = 0.000093$ $p_2 = 0.714393$
Щелочная фосфатаза (ЕД/л) Alkaline phosphatase (U/l)	34.85 (30.79; 36.37)	46.21 (40.48; 59.07) $p_1 = 0.000502$	36.02 (32.03; 38.43) $p_1 = 0.369593$ $p_2 = 0.0184167$ $p_3 = 0.0202411$	49.09 (39.12; 70.62) $p_1 = 0.000572$ $p_2 = 0.830324$
ЛДГ (ЕД/л) LDH (U/l)	367.47 (263.108; 509.13)	496.95 (442.92; 1050.36) $p_1 = 0.002908$	392.58 (338.34; 398.77) $p_1 = 0.884126$ $p_2 = 0.012419$ $p_3 = 0.133615$	432.46 (389.27; 537.57) $p_1 = 0.200859$ $p_2 = 0.173486$
Общий билирубин (мкмоль/л) Total bilirubin (μmol/l)	20.23 (15.63; 20.36)	20.25 (20.06; 20.97) $p_1 = 0.005880$	10.61 (8.68; 13.02) $p_1 = 0.000080$ $p_2 = 0.004846$ $p_3 = 0.089270$	13.15 (11.57; 14.28) $p_1 = 0.000560$ $p_2 = 0.044576$
Мочевина (ммоль/л) Urea (μmol/l)	5.15 (3.46; 5.22)	3.07 (2.67; 3.50) $p_1 = 0.060413$	2.36 (1.78; 2.74) $p_1 = 0.000641$ $p_2 = 0.066193$ $p_3 = 0.900865$	2.49 (1.7; 2.7) $p_1 = 0.021217$ $p_2 = 0.294802$
Креатинин (мкмоль/л) Creatinine (μmol/l)	64.88 (44.84; 77.49)	64.48 (42.07; 74.36) $p_1 = 0.839168$	52.24 (41.07; 60.87) $p_1 = 0.258990$ $p_2 = 0.688404$ $p_3 = 1$	51.56 (49.61; 53.43) $p_1 = 0.664182$ $p_2 = 0.809855$

П р и м е ч а н и е . Данные представлены как медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$  – по сравнению с контрольной группой,  $p_2$  – по сравнению с первой опытной группой,  $p_3$  – по сравнению с третьей опытной группой.

Note . The data is presented as median, upper and lower quartiles;  $p_1$  – compared to the control group,  $p_2$  – compared to the 1st experimental group,  $p_3$  – compared to the 3rd experimental group.

отношению к первой и третьей опытным группам указанный показатель достоверно снижался на 22 и 26.7 % соответственно. Активность ЛДГ имела тенденцию к увеличению на 6.8 % по сравнению с контролем, достоверно снижалась на 21 % по сравнению с первой группой, по отношению к третьей группе снижалась недостоверно на 9.2 %. Концентрация холестерина имела тенденцию к снижению по отношению ко всем исследуемым группам (на 33.3, 8.3 и 14.8 %). Содержание общего белка имело тенденцию к снижению по сравнению с контролем (на 12.2 %) и третьей опытной группой (на 44.9 %) и незначительно превышало показатели второй опытной группы (на 8.3 %). Концентрация креатинина имела тенденцию к снижению по сравнению с контролем (на 19.5 %) и первой опытной группой (на 18.9 %), по отношению к третьей наблюдалось незначительное увеличение (на 1.3 %).

У третьей опытной группы, получавшей спиртовое извлечение тимьяна Маршалла, содержание общего белка достоверно увеличивалось по сравнению с контролем и первой опытной группой на 27.3 и 56.7 % соответственно. Уровень альбумина оставался в пределах значений группы контроля и первой опытной группы. Активность АЛТ статистически значимо увеличивалась по сравнению с контролем на 75 %, по отношению к первой опытной имелась тенденция к снижению на 5.17 %. Активность АСТ и ЩФ достоверно увеличивалась на 111.3 и 40.9 % соответственно по сравнению с контролем, по отношению к первой группе имелась тенденция к увеличению показателей на 9.8 и 6.2 % соответственно. Отмечали достоверное снижение содержания общего билирубина на 34.9 и 35.1 % по сравнению с контролем и первой группой. Содержание мочевины статистически значимо снижалось по отношению к контрольной группе на 51.6 %, по сравнению с первой группой показатель имел тенденцию к снижению на 18.9 %. Отмечена тенденция к снижению уровня глюкозы (на 9.4 %), холестерина (на 33.3 %) по сравнению с контрольной группой, по отношению к первой опытной показатели незначительно увеличились – на 10.6 и 5.2 % соответственно. Активность ЛДГ изменялась недостоверно по сравнению с исследуемыми группами: значения увеличились по сравнению с контролем на 17.7 % и снизились на 12.9 % по отношению к первой опытной группе. Содержание креатинина достоверно не отличалось от показателей контроля и первой опытной группы, но имело тенденцию к снижению (на 20.5 и 20.04 % соответственно).

and slightly exceeded the parameters of the second experimental group (by 8.3%). Creatinine level tended to decrease in comparison with the control (by 19.5%) and first experimental group (by 18.9%), a slight increase (by 1.3%) was observed in relation to the third.

In the third experimental group receiving ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd., the total protein content significantly increased compared to the control and first experimental group by 27.3 and 56.7%, respectively. The albumin level remained within the values of the control and first experimental group. The ALT activity increased significantly by 75% compared to the control, there was a tendency to decrease by 5.17% in relation to the first experimental one. The activity of AST and ALP significantly increased by 111.3 and 40.9%, respectively, compared with the control, in relation to the first group there was a tendency to increase by 9.8 and 6.2%, respectively. There was a significant decrease in the total bilirubin content by 34.9 and 35.1% compared to the control and first group. The urea content decreased statistically significantly in relation to the control group by 51.6%; compared with the first group, the parameter tended to decrease by 18.9%. There was a tendency to decrease in glucose (by 9.4%), cholesterol (by 33.3%) levels compared to the control group; in relation to the first experimental group, the parameters increased slightly – by 10.6 and 5.2%, respectively. LDH activity changed insignificantly as compared to the study groups: the values increased by 17.7% compared to the control, and decreased by 12.9% compared to the first experimental group. The creatinine content did not significantly differ from the parameters of the control and first experimental group, but tended to decrease (by 20.5 and 20.04%, respectively).

## DISCUSSION

Earlier, Yu.A. Starchak [5] carried out a toxicity determination for infusions of *Thymus* sp. plants in the concentration range of 2000, 3000, 4000 and 5000 mg/kg on mice of both sexes with 6 animals in a group by a single intraperitoneal injection. The administration of all the studied doses did not lead to the death of animals. It should be noted that the infusion at a dose of 5000 mg/kg during the first hours caused a decrease in appetite, lethargy, accelerated breathing, and inactivity in animals. But then the mice of the experimental groups behaved in the same way as the mice of the control group, which were injected with water in an equivalent volume. In the study of acute toxicity of ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее Ю.А. Старчак [5] было проведено определение токсичности для настоев растений рода тимьян в диапазоне концентраций 2000, 3000, 4000 и 5000 мг/кг на мышах обоего пола по 6 животных в группе путем однократного внутривенного введения. Введение всех исследованных доз не приводило к гибели животных. Следует отметить, что настой в дозе 5000 мг/кг в течение первых часов вызывал у животных снижение аппетита, вялость, учащение дыхания, гиподинамию. Но затем мыши опытных групп вели себя так же, как и мыши контрольной группы, которым вводили воду в эквивалентном объеме. При исследовании острой токсичности спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла признаков интоксикации у животных всех групп (получавших извлечения в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг) отмечено не было. Экспериментально установлено, что исследуемое спиртовое извлечение так же, как и настой [5], по классификации токсичности химических веществ относится к малотоксичным веществам.

При оценке биохимических показателей крови у животных второй опытной группы, получавшей водное извлечение тимьяна Маршалла, нами отмечено снижение уровня глюкозы, что согласуется с предыдущими исследованиями, которые показали гипогликемическую эффективность полифенольных соединений [13].

Содержание общего белка и альбумина оставалось в пределах значений контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии нарушений биосинтетической функции печени. Значимых отклонений в активности АСТ, АЛТ, ЛДГ, ЩФ, общего билирубина и холестерина установлено не было, что говорит об отсутствии нарушений в функциональном состоянии печени и сердца. Содержание креатинина и мочевины также находилось в пределах нормы, что позволяет говорить об отсутствии функциональных изменений со стороны почек.

При анализе биохимических показателей крови у животных третьей опытной группы, получавшей спиртовое извлечение тимьяна Маршалла, наблюдали повышение активности ферментов, локализованных преимущественно в печени (АЛТ, АСТ, ЩФ). Это может быть результатом повышения проницаемости клеточных мембран под действием данного извлечения, при этом белково-синтезирующая функция печени не нарушалась – содержание альбумина оставалось в пределах контроля. Уровень мочевины и креатинина находился в пределах нормы, что

herb, there were no signs of intoxication in animals of all groups (which received extracts at doses of 1000, 3000 and 5000 mg/kg). It has been experimentally established that the studied ethanol extraction, as well as infusions [5], according to the classification of toxicity of chemicals, belong to low-toxic substances.

When assessing the biochemical parameters of blood in animals of the second experimental group, which received an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd., we noted a decrease in glucose levels, which is consistent with previous studies that showed the hypoglycemic efficacy of polyphenolic compounds [13].

The content of total protein and albumin remained within the values of the control group, which indicates the absence of impairments of the biosynthetic function of the liver. There were no significant deviations in the activity of AST, ALT, LDH, ALP, total bilirubin and cholesterol levels, which indicates the absence of disorders in the functional state of the liver and heart. The levels of creatinine and urea were also within the reference range, which suggests the absence of functional changes on the part of the kidneys.

When analyzing the blood biochemical parameters in animals of the third experimental group receiving the ethanol extract of *Thymus marschallianus* Willd., an increase in the activity of enzymes localized mainly in the liver (ALT, AST, ALP) was observed. This may be the result of an increase in the permeability of cell membranes under the action of this extraction, while the function of protein synthesis of the liver was not impaired – the albumin content remained within the control. The levels of urea and creatinine were within the reference range, which indicates the absence of kidney disorders. The rest of biochemical parameters did not show noticeable deviations compared to the control group of animals.

## CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. An ethanol extraction from the *Thymus marschallianus* Willd. at doses of 1000, 3000 and 5000 mg/kg according to the classification of toxicity of chemicals (GOST 12.1.007-76) belongs to the IV class of toxicity (low-toxic substances).

2. The administration of an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd. at a dose of 100 mg/kg led to a significant decrease in glucose, albumin, total bilirubin and urea levels, as well as a decrease in ALT activity. The content of cholesterol, total protein, creatinine, as well as the activity of ALP and

говорит об отсутствии нарушений со стороны почек. Остальные биохимические параметры не обнаружили заметных отклонений по сравнению с контрольной группой животных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Спиртовое извлечение тимьяна Маршалла в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг по классификации токсичности химических веществ (ГОСТ 12.1.007-76) относится к IV классу токсичности (малотоксичные вещества).

2. Введение водного извлечения тимьяна Маршалла в дозе 100 мг/кг приводило к достоверному снижению уровня глюкозы, альбуминов, общего билирубина и мочевины, а также снижению активности АЛТ. Содержание холестерина, общего белка, креатинина, а также активность ЩФ и ЛДГ достоверно не отличались от показателей контрольной группы.

3. Ведение спиртового извлечения тимьяна Маршалла приводило к увеличению содержания общего белка и активности АЛТ, АСТ, ЩФ и снижению уровня общего билирубина и мочевины по сравнению с контрольной группой. Содержание глюкозы, холестерина, альбуминов, креатинина и активность ЛДГ оставались в пределах значений контрольной группы.

Результаты проведенного исследования не выявили существенных изменений в биохимических показателях крови мышей при введении водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла, что на биохимическом уровне подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахтаева Н.З., Датхаев У.М., Гемеджиева Н.Г. и др. Изучение растений рода мордовник (*Echinops* L.) как перспективных источников биологически активных веществ // Вестн. Казахского Нац. мед. ун-та. 2014;5:96–99.
2. Казанчева О.Д., Герасименко А.С. Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецепторной активностью // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2016;8-4:522–525.
3. Кан М.У., Шашурин М.М., Журавская А.Н. Биологическая и токсикологическая активность водно-спиртовых экстрактов из ряда хвойных растений Якутии // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2021;26(1):136–144. DOI: 10.31242/2618-9712-2021-26-1-13.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Н.Д. Бунятян,

LDH did not significantly differ from the parameters of the control group.

3. The administration of an ethanol extract of *Thymus marschallianus* Willd. led to an increase in the total protein content and activity of ALT, AST, ALP, and to a decrease in the levels of total bilirubin and urea compared with the control group. The content of glucose, cholesterol, albumin, creatinine and LDH activity remained within the control group values.

The results of the study did not reveal significant changes in the blood biochemical parameters of mice with the administration of aqueous and ethanol extracts of *Thymus marschallianus* Willd., which at the biochemical level confirms the safety of the use of extracts from this type of plant raw materials.

**Acknowledgments.** We express our gratitude to the leading specialist in the flora of the Saratov region, Dr. Sci. (Biol.), Prof. Mikhail Alexandrovich Berezutsky for the species identification of *Thymus marschallianus* Willd. herbarium specimens.

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

**Благодарности.** Выражаем благодарность ведущему специалисту по флоре Саратовской области, д-ру биол. наук, проф. Михаилу Александровичу Березуцкому за видовое определение гербарных экземпляров *Thymus marschallianus* Willd.

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

## REFERENCES

1. Akhtaeva N.Z., Datkhaev U.M., Gemedzhieva N.G. et al. Study plants of the genus *Echinops* L. as a promising source of biologically active substances. *Bulletin of the Asfendyarov Kazakh National Medical University*, 2014;5:96–99. (In Russ.)
2. Kazancheva O.D., Gerasimenko A.S. Search methodology of the new biologically active pharmaceutical substances with receptor activity. *Int. J. Applied and Fundamental Research*. 2016;8-4:522–525. (In Russ.)
3. Kan M.U., Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. Biological and toxicological activity of aqueous-alcoholic extracts from a number of conifers of Yakutia. *Arctic and Subarctic Natural Resources*. 2021;26(1):136–144. DOI: 10.31242/2618-9712-2021-26-1-13. (In Russ.)
4. Bunyatyan N.D, Vasiliev A.N., Verstakova O.L. et al. (2012). *Guidelines for the Preclinical Studies of Medicines*. Moscow. 944 p. (In Russ.)

- А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова и др.; отв. ред. А.Н. Миронов. М., 2012. 944 с.
5. Старчак Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (*Thymus L.*) как перспективного источника получения фитопрепаратов: дис. ... д-ра фармацевт. наук. Курск, 2016. 472 с.
  6. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сб. тр. Седьмой науч. конф. с междунар. участием. М., 2019. С. 509–514.
  7. Sevastre-Berghian A.C., Ielciu I., Mitre A.O. et al. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-kB pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marshallianus* Willd. extracts // Front. Pharmacol. 2020;11:581470. DOI: 10.3389/fphar.2020.581470.
  8. Коросов А.В., Калинин Н.М. Количественные методы экологической токсикологии: учеб.-метод. пособие. Петрозаводск: Петрозаводск гос. ун-т, 2003. 52 с.
  9. Шереметьева А.С., Напшева А.М., Дурнова Н.А. Противоопухолевая активность *in vivo* водного и спиртового экстрактов *Thymus marschallianus* Willd. // Фармация и фармакология. 2021;9(6):476–484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484.
  10. Гладкова В.Н., Меницкий Ю.Л. Род Тимьян – *Thymus L.* // Флора европейской части СССР: в 11 т. / под ред. А.А. Федорова. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1978. Т. 3 (ред. Ю.Л. Мечицкий). С. 191–204.
  11. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд-е. М., 2018. Т. 2. С. 1962–1967.
  12. Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью: Патент РФ на изобретение RU 2482863C1. Опубл.: 27.05.2013. Бюл. № 15.
  13. Chen J., Mangelinckx S., Adams A. et al. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications / Nat. Prod. Commun. 2015;10(1):187–200. DOI: 10.1177/1934578X1501000140.
  5. Starchak Yu.A. (2016). *Pharmacognostic study of the Thymus L. genus plants as a promising source of phytopreparations*. Cand. Sci. (Pharmaceut.) Thesis. Kursk. 472 p. (In Russ.)
  6. Sheremetyeva A.S., Durnova N.A., Raikova S.V. (2019). *Research of antimicrobial activity water-ethanol extract of Thymus Marschallianus*. Current Trends in the Development of Health-Saving Technologies: Collection of papers, 7th Sci. Conf. Moscow. P. 509–514. (In Russ.)
  7. Sevastre-Berghian A.C., Ielciu I., Mitre A.O. et al. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-kB pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marshallianus* Willd. extracts. *Front. Pharmacol.* 2020;11:581470. DOI: 10.3389/fphar.2020.581470.
  8. Korosov A.V., Kalinkina N.M. (2003). *Quantitative Methods of Environmental Toxicology*. Petrozavodsk. 52 p. (In Russ.)
  9. Sheremetyeva A.S., Napsheva A.M., Durnova N.A. Antitumor activity *in vivo* of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus marschallianus* Willd. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):476–484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484. (In Russ.)
  10. Gladkova V.N., Menitsky Yu.L. (1978). *Thymus L. genus*. In *Flora of the European Part of the USSR*. Saint-Petersburg, Vol. 3. P. 191–204. (In Russ.)
  11. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. (2018). Moscow, Vol. 2. Pp. 1962–1967. (In Russ.)
  12. Polukonova N.V., Navolokin N.A., Durnova N.A., Maslyakova G.N., Bucharskaya A.B. Method for preparing dry extract of herbal raw material possessing biological activity: RF Patent No. 2482863C1. Published: 27.05.2013. Bull. No. 15. (In Russ.)
  13. Chen J., Mangelinckx S., Adams A. et al. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications. *Nat. Prod. Commun.* 2015;10(1):187–200. DOI: 10.1177/1934578X1501000140.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Каретникова Алена Юрьевна** – студентка 5-го курса ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 000-0002-8043-3142.

**Шереметьева Анна Сергеевна** – старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 0000-0002-0022-8318.

**Дурнова Наталья Анатольевна** – д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 0000-0003-4628-9519.

## ABOUT THE AUTHORS

**Alena Yu. Karetnikova** – Five-year Student, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 000-0002-8043-3142.

**Anna S. Sheremetyeva** – Senior Lecturer, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 0000-0002-0022-8318.

**Natalya A. Durnova** – Dr. Sci. (Biol.), Prof., Head, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 0000-0003-4628-9519.

## Значение опережающей реакции вегетативной нервной системы в условиях когнитивной нагрузки у условно здоровых студентов

Е.А. Арчибасова<sup>1</sup>, В.Ю. Куликов<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Опережающие механизмы регуляции позволяют человеку более эффективно адаптироваться к воздействию средовых факторов с формированием оптимальной структуры ответной реакции.

**Ц е л ь .** Выявить особенности опережающей реакции вегетативной нервной системы в условиях когнитивной нагрузки у условно здоровых студентов.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В исследовании участвовали 30 студентов медицинского университета в возрасте 18–19 лет. Участники были разделены на две группы (15 чел. в каждой). В группе 1 в качестве нагрузки применялся тест «семантическая вербальная беглость», в группе 2 – тест Амтхауэра. Кардиоинтервалограммы у обследуемых юношей записывались в условиях контроля и нагрузки. Оценивались показатели вариабельности сердечного ритма (ВСР) – RRNN, TP, HF, LF, VLF.

**Р е з у л ь т а т ы .** Анализ ВСР в группе 1 выявил, что после нагрузки показатели RRNN, TP, HF, LF достоверно снижаются, в группе 2 после нагрузки показатели TP и LF достоверно повышаются относительно контрольных значений. Методом корреляционного анализа выявлены отличия между показателями ВСР на момент подготовки к выполнению когнитивного теста между исследуемыми группами. В группе 1 в отличие от группы 2 отсутствовала корреляционная зависимость между показателями RRNN и HF, TP и LF, HF и LF, LF и VLF. После проведения теста в группе 1 выявлена достоверная положительная корреляция между показателями RRNN и HF. В группе 2 определены корреляционные взаимоотношения между показателями RRNN и LF, взаимодействие между HF и LF увеличилось, корреляция между параметрами LF и VLF отсутствует. Отличия между показателями ВСР на момент подготовки к выполнению когнитивного теста показали, что ожидание предстоящей нагрузки определяет реакцию регуляторных механизмов ВСР на действие нагрузки.

**З а к л ю ч е н и е .** Различные варианты когнитивных нагрузок способствуют изменению активности отделов вегетативной нервной системы в регуляции ВСР. Характер этих изменений зависит от исходного уровня регуляторных возможностей ВСР, определяющих опережающий вариант реагирования на предъявляемую когнитивную нагрузку.

**Ключевые слова:** опережающая реакция вегетативной нервной системы, когнитивная нагрузка, вариабельность сердечного ритма.

**Образец цитирования:** Арчибасова Е.А., Куликов В.Ю., Воевода М.И. Значение опережающей реакции вегетативной нервной системы в условиях когнитивной нагрузки у условно здоровых студентов // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):18–27. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-18-27

## Autonomic nervous system antedating response significance in the apparently healthy students under conditions of cognitive load

Е.А. Archibasova<sup>1</sup>, V.Yu. Kulikov<sup>1</sup>, M.I. Voevoda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Anticipating regulatory mechanisms allow a person to more effectively adapt to the impact of environmental factors with the formation of an optimal response structure.

Поступила в редакцию 20.05.2021  
Прошла рецензирование 21.12.2021  
Принята к публикации 18.01.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Арчибасова Елена Алексеевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.  
E-mail: helen280776@rambler.ru

Received 20.05.2021  
Revised 21.12.2021  
Accepted 18.01.2022

*Corresponding author*  
Elena A. Archibasova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: helen280776@rambler.ru

**A i m .** To reveal the features of the antedating response of the autonomic nervous system under conditions of cognitive load in apparently healthy students.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The study involved 30 medical university students aged 18–19 years. The participants were divided into two groups (15 people in each). In group 1, the semantic verbal fluency test was used as a load, in group 2 – the Intelligence Structure Test (IST) by Amthauer. RR intervals in the examined young men were recorded under control and load conditions. The indicators of heart rate variability (HRV) were assessed – RRNN, TP, HF, LF, VLF.

**R e s u l t s .** Analysis of HRV in group 1 revealed that after exercise, RRNN, TP, HF, and LF indicators significantly decreased; in group 2, after exercise, TP and LF indicators significantly increased relative to control values. Using correlation analysis, we revealed differences between the HRV indicators at the time of preparation for the cognitive test between the studied groups. In group 1, unlike group 2, there was no correlation between RRNN and HF, TP and LF, HF and LF, LF and VLF. After the test in group 1, a significant positive correlation was found between RRNN and HF. In group 2, the correlation relationships between the RRNN and LF indicators were determined, the interaction between HF and LF increased, there were no correlation between the LF and VLF indicators. Differences between the HRV indicators at the time of preparation for the cognitive test showed that the anticipation of the upcoming examination determines the response of the HRV regulatory mechanisms to the action of the load.

**C o n c l u s i o n .** Different variants of cognitive loads contribute to changes in the activity of the autonomic nervous system in the regulation of HRV. The nature of these changes depends on the initial level of regulatory capabilities of HRV, which determine the antedating response to the cognitive load.

**Keywords:** antedating response of the autonomic nervous system, cognitive load, heart rate variability.

**Citation example:** Archibasova E.A., Kulikov V.Yu., Voevoda M.I. Autonomic nervous system antedating response significance in the apparently healthy students under conditions of cognitive load. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):18–27. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-18-27

## ВВЕДЕНИЕ

В организме сочетаются два принципа регуляции – регуляция по принципу отклонения и регуляция по принципу возмущения. В первом случае деятельность регуляторных систем начинается, если какой-либо из параметров внутренней среды отклоняется от нормальной величины. Передача информации об отклонении включает регуляторную систему, достижение результата, т.е. приведение параметра к норме является сигналом для прекращения деятельности системы регуляции. В случае возникновения сигнала опасности включается регуляция по принципу возмущения. Нервные и гуморальные механизмы в данном случае работают с опережением, готовят организм к активной деятельности. В физиологическом плане представление об опережающем возбуждении И.П. Павлов описал как состояние «предупредительной деятельности». Это означает, что организм должен подготовить себя по сигналу к предстоящим, последовательно развивающимся событиям для того, чтобы их можно было результативно осуществлять. П.К. Анохин развил эту точку зрения и представил ее в форме теории «опережающего возбуждения» [1], которая характерна только для человека и реализуется в рамках специфической функциональной системы с активным включением процессов актуализации памяти. Такое опережающее отражение действительности позво-

## INTRODUCTION

Two principles of regulation are combined in the body – regulation according to the principle of deviation and regulation according to the principle of perturbation. In the first case, the activity of regulatory systems begins if any of the parameters of the internal environment deviates from the normal value. The transmission of information about the deviation includes the regulatory system, the achievement of the result, thus bringing the parameter to the normal range is a signal for the termination of the regulation system activity. In the event of a danger signal, the perturbation-based regulation is activated. Nervous and humoral mechanisms in this case work in advance, prepare the organism for vigorous activity. In physiological terms, the idea of advanced excitation by I.P. Pavlov described it as a state of “preventive activity”. This means that, on a signal, the organism must prepare itself for upcoming, sequentially developing events so that they can be effectively carried out. P.K. Anokhin developed this point of view and presented it in the form of the theory of anticipating excitation [1], which is characteristic only for humans and is realized a specific functional system with the active involvement of memory actualization processes. Such an antedating reflection of reality allows a person to more effectively adapt to the impact of environmental factors of various modalities with the formation of an optimal response structure, which significantly reduces

ляет человеку более эффективно адаптироваться к воздействию средовых факторов различной модальности с формированием оптимальной структуры ответной реакции, что существенно снижает соответствующие энергетические затраты на ее реализацию.

В нашем исследовании мы оценивали особенности регуляции variability сердечного ритма (ВСР) у студентов при различных вариантах когнитивной нагрузки. Известно, что изменения вегетативного баланса играют важную роль в процессах адаптации во время обучения. В ряде исследований [2–4] показано, что когнитивные процессы жестко связаны с динамикой вегетативной регуляции кардиоритма посредством общей нейрофизиологической основы. Определение параметров ВСР до предстоящего испытания является методом, позволяющим оценить опережающую реакцию вегетативной нервной системы. Механизмы такого варианта регуляции готовят организм к активной деятельности, т.е. эффект возмущающего воздействия прогнозируется и организм заранее к нему готовится [5].

Таким образом, понимание опережающего характера реагирования системных механизмов регуляции физиологических процессов при разных вариантах когнитивной нагрузки у студентов определило цель настоящего исследования.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить особенности опережающей реакции вегетативной нервной системы (ВНС) в условиях когнитивной нагрузки (тесты: семантическая вербальная беглость и устный счет) у условно здоровых студентов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 30 студентов медицинского университета в возрасте 18–19 лет, которых разделили на две группы. В группе 1 (15 чел.) в качестве нагрузки применялся тест «семантическая вербальная беглость», суть которого заключалась в мысленной генерации (воспроизведении) списка слов, принадлежащих определенной семантической категории. В группе 2 (15 чел.) в качестве нагрузки применялся тест Амтхауэра (устное решение арифметических задач). Запись кардиоинтервалограммы в условиях контроля (когда осуществлялся соответствующий инструктаж) проводилась в течение 15 мин в положении сидя, без нагрузки. Запись с нагрузкой проводилась в идентичных условиях. Для анализа были использованы показатели, отражающие механизмы

the corresponding energy expenditure for its implementation.

In our study, we evaluated the features of the regulation of heart rate variability (HRV) in students with different types of cognitive load. It is known that changes in autonomic balance play an important role in adaptation processes during training. A number of studies [2–4] have shown that cognitive processes are closely related to the dynamics of autonomic regulation of heart rate through a common neurophysiologic basis. Determination of HRV parameters before the upcoming test is a method to assess the antedating response of the autonomic nervous system. The mechanisms of such a variant of regulation prepare the body for vigorous activity, i.e. the effect of the perturbing influence is predicted and the organism prepares for it in advance [5].

Thus, understanding the anticipating nature of the response of systemic regulatory mechanism of physiological processes in different variants of cognitive load among students determined the purpose of this study.

## AIM OF THE RESEARCH

To reveal the features of the antedating response of the autonomic nervous system (ANS) under conditions of cognitive load (semantic verbal fluency and verbal counting tests) in apparently healthy students.

## MATERIALS AND METHODS

The study involved 30 medical university students aged 18–19 years, who were divided into two groups. In group 1 (15 people), the semantic verbal fluency test was used as a load, the essence of which was the mental generation (reproduction) of a list of words belonging to a certain semantic category. In group 2 (15 people), the Intelligence Structure Test (IST) by Amthauer (oral solution of arithmetic problems) was used as a load. Recording of RR intervals under control conditions (when appropriate instruction was carried out) was carried out for 15 min in a sitting position, without load. Recording with a load was carried out under identical conditions. For the analysis, indicators were used that reflect the mechanisms of HRV regulation and affect its features [6]. These are: RRNN, mc (average value of RR intervals); TP (Total Power), mc<sup>2</sup> (total power in the frequency range  $\leq 0.4$  Hz); HF (High Frequency), mc<sup>2</sup> (power in the range of high (0.15–0.4 Hz) frequencies, waves with a duration of 2.5–6.5 s); LF (Low Frequency), mc<sup>2</sup> (power in the range of low (0.04–0.15 Hz) frequencies, waves with a duration of 6.5–25 s); VLF (Very Low Frequency), mc<sup>2</sup> (power in the

регуляции ВСП и влияющие на его особенности [6]. Это: RRNN, мс (среднее значение интервалов RR); TP (Total Power), мс<sup>2</sup> (общая мощность в диапазоне частот ≤ 0.4 Гц); HF (High Frequency), мс<sup>2</sup> (мощность в диапазоне высоких (0.15–0.4 Гц) частот, волны длительностью 2.5–6.5 с); LF (Low Frequency), мс<sup>2</sup> (мощность в диапазоне низких (0.04–0.15 Гц) частот, волны длительностью 6.5–25 с); VLF (Very Low Frequency), мс<sup>2</sup> (мощность в диапазоне очень низких (≤ 0.04 Гц) частот, волны длительностью более 25 с).

Полученные результаты обрабатывались с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel, STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc.). Для обработки полученных данных использовались непараметрические методы анализа, как для зависимых, так и независимых переменных. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Зависимость показателей определялась с помощью дисперсионного анализа ANOVA. Различия считались достоверными при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования проводилась оценка показателей ВСП в группе исследования 1, в которой в качестве нагрузки применялся тест «семантическая вербальная беглость», и в группе 2, в которой в качестве нагрузки применялся тест Амтхауэра. Полученные данные представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из представленных в табл. 1 данных, после нагрузки показатели RRNN, TP, HF, LF достоверно снижаются.

range of very low ( $\leq 0.04$  Hz) frequencies, waves with a duration of more than 25 s).

The results obtained were processed using the Microsoft Excel, STATISTICA 7.0 software package (StatSoft Inc.). To process the obtained data, non-parametric methods of analysis were used, both for dependent and independent variables. The Spearman's rank correlation test was carried out. The dependence of indicators was determined using the analysis of variance (ANOVA). Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

At the first stage of the study, HRV indicators were assessed in group 1 in which the semantic verbal fluency test was used as a load, and in group 2, in which the IST by Amthauer was used as a load. The data obtained are presented in Table 1 and 2.

As can be seen from the Table 1 data, after the load, the RRNN, TP, HF, LF indicators significantly decrease.

As can be seen from the Table 2 data, after the load, the TP and LF indicators significantly increase.

When comparing HRV indicators between groups 1 and 2, no significant differences were found before the study, significant differences were found after the study. The data are presented in Table 3, 4.

Before the load test, the HRV indicators in both groups of subjects did not differ; after the load test, the nature of the HRV reaction changed which, in our opinion, is due to the variant of the cognitive load and a certain influence of the ANS antedating response to the upcoming testing [7, 8]. Therefore, at

**Таблица 1.** Показатели ВСП в группе исследования 1 (тест «семантическая вербальная беглость»),  $M \pm m$   
**Table 1.** HRV in group 1 (semantic verbal fluency test),  $M \pm m$

Показатель Indicator	До нагрузки Before the load	После нагрузки After the load	<i>p</i>
RRNN, мс (мс)	798.7 ± 48.0	736.7 ± 49.4	0.02
TP, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	3227.9 ± 580.2	1468.3 ± 330.5	0.005
HF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1015.2 ± 216.7	291.9 ± 89.02	0.005
LF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1167.9 ± 274.6	496.1 ± 136.6	0.006
VLF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1044.7 ± 303.09	680.2 ± 212.5	0.2

**Таблица 2.** Показатели ВСП в группе исследования 2 (тест Амтхауэра),  $M \pm m$   
**Table 2.** HRV indicators in group 2 (IST by Amthauer),  $M \pm m$

Показатель Indicator	До нагрузки Before the load	После нагрузки After the load	<i>p</i>
RRNN, мс (мс)	793.7 ± 33.5	759.8 ± 32.09	0.1
TP, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	3760.4 ± 692.7	5427.4 ± 823.2	0.01
HF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	854.06 ± 246.9	1385.2 ± 316.6	0.06
LF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1535.06 ± 284.2	1984.1 ± 337.8	0.03
VLF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	555.6 ± 90.6	768.9 ± 121.7	0.07

**Таблица 3.** Показатели ВСП в группах исследования 1 и 2 до проведения нагрузочного теста, М ± m  
**Table 3.** HRV indicators in groups 1 and 2 before the load test, M ± m

Показатель / Indicator	Группа 1 / Group 1	Группа 2 / Group 2	p
RRNN, мс (мс)	798.7 ± 48.0	793.7 ± 33.5	0.9
TP, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	3760.4 ± 692.7	3760.4 ± 692.7	0.5
HF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1015.2 ± 216.7	854.06 ± 246.9	0.6
LF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1167.9 ± 274.6	1535.06 ± 284.2	0.3
VLF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1044.7 ± 303.09	555.6 ± 90.6	0.08

Как видно из представленных в табл. 2 данных, после нагрузки показатели TP и LF достоверно повышаются.

При сравнении показателей ВСП между группами исследования 1 и 2 до проведения исследования достоверных отличий не выявлено, достоверные отличия выявлены после проведения исследования. Данные представлены в табл. 3, 4.

Перед проведением нагрузочного теста показатели ВСП в обеих группах исследуемых не отличались, после проведения нагрузочного теста характер реакции ВСП изменился, что, по нашему мнению, обусловлено вариантом когнитивной нагрузки и определенным влиянием опережающей реакции ВНС на предстоящую нагрузку [7, 8]. Поэтому на втором этапе исследования проводился корреляционный анализ показателей ВСП в группах исследования 1 и 2, который более глубоко выявляет характер перестройки межсистемных взаимоотношений в условиях предъявляемых организму нагрузок и отражает более ранние изменения системы вегетативно-метаболической регуляции в условиях адаптации [9, 10]. Корреляционные отношения между показателями определялись до и после проведения нагрузочного теста. Полученные данные представлены в табл. 5–8. В этих таблицах указаны достоверные значения корреляций ( $p < 0.05$ ).

В группе 1 корреляционные взаимоотношения между показателями изменились. После проведения теста выявлена достоверная положительная корреляция между показателями RRNN

the second stage of the study, a correlation analysis of HRV indicators was carried out in groups 1 and 2, which more deeply reveals the nature of the restructuring of intersystemic relationships under the load conditions, and reflects earlier changes in the autonomic-metabolic regulation system accompanying adaptation [9, 10]. Correlation relationships between the indicators were determined before and after the load test. The data obtained are presented in Tables 5–8. These tables show significant correlation indicators ( $p < 0.05$ ).

In group 1, the correlation relationships between the indicators have changed. After the test, a significant positive correlation was found between RRNN and HF ( $p < 0.05$ ). Thus, the cardiac cycle length depends on the regulatory influence of the parasympathetic nervous system, when there is a significant decrease in its activity, and shortening of the cardiac cycle time. Correlation relationships between the RRNN and LF indicators were not revealed, and the TP indicator (total power of the range) is in a positive correlation relationship with the HF indicator. Thus, the main influence in the regulation of HRV in group 1 after the load semantic verbal fluency test belongs to the parasympathetic NS.

In group 2, a significant positive correlation between the studied indicators was also revealed. After the load test, the correlation relationships appear between the RRNN and LF indicators. The interaction between the sympathetic and parasympathetic divisions of the ANS is enhanced. After the load, there is no correlation between the LF and VLF indicators, while at baseline, a correlation was

**Таблица 4.** Показатели ВСП в группах исследования 1 и 2 после проведения нагрузочного теста, М ± m  
**Table 4.** HRV indicators in groups 1 and 2 after load test, M ± m

Показатель / Indicator	Группа 1 / Group 1	Группа 2 / Group 2	p
RRNN, мс (мс)	736.7 ± 49.4	759.8 ± 32.09	0.6
TP, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	1468.3 ± 330.5	5427.4 ± 823.2	0.0009
HF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	291.9 ± 89.02	1385.2 ± 316.6	0.01
LF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	496.1 ± 136.6	1984.1 ± 337.8	0.002
VLF, мс <sup>2</sup> (мс <sup>2</sup> )	680.2 ± 212.5	768.9 ± 121.7	0.7

**Таблица 5.** Корреляционная матрица (Спирмена) для показателей ВСП в группе исследования 1 до проведения нагрузочного теста**Table 5.** Correlation (Spearman's) matrix for the HRV indicators in group 1 before the load test

	HF	LF	VLF	TP
RRNN				
TP	+0.9		+0.87	
HF			+0.75	
LF				

**Таблица 6.** Корреляционная матрица (Спирмена) для показателей ВСП в группе исследования 1 после проведения нагрузочного теста**Table 6.** Correlation (Spearman's) matrix for the HRV indicators in group 1 after the load test

	HF	LF	VLF	TP
RRNN	+0.79			
TP	+0.79		+0.67	
HF				
LF				

и HF ( $p < 0.05$ ). Таким образом, продолжительность сердечного цикла зависит от регуляторного влияния парасимпатического отдела ВНС, когда наблюдается достоверное снижение активности этого отдела и уменьшение времени сердечного цикла. Корреляционных взаимоотношений между показателями RRNN и LF не выявлено, а также показатель TP (общая мощность спектра) находится в положительных корреляционных взаимоотношениях с показателем HF. Таким образом, основное влияние в регуляции ВСП в группе 1 после проведения нагрузочного теста «семантическая вербальная беглость» принадлежит парасимпатическому отделу ВНС.

В группе 2 также выявлена достоверная положительная корреляционная зависимость между исследуемыми показателями. После нагрузоч-

found between the sympathetic NS and the metabolic component of regulation. Thus, after the load, in group 2 the main influence of HRV regulation belongs to the sympathetic part of the autonomic nervous system.

At the third stage of the study, in groups 1 and 2 an ANOVA of TP, LF, and HF indicators was performed, which showed their significant ( $p < 0.05$ ) change after the cognitive test (Fig. 1–3).

As can be seen from the presented figures, at baseline the TR, LF, HF indicators do not differ in both groups, however, after the loading test, these indicators significantly ( $p < 0.05$ ) increase in group 2 relatively to group 1.

The revealed correlation differences between the HRV indicators at the time of preparation for the cognitive load test suggest that the anticipation

**Таблица 7.** Корреляционная матрица (Спирмена) для показателей ВСП в группе исследования 2 до проведения нагрузочного теста**Table 7.** Correlation (Spearman's) matrix for HRV indicators in group 2 before the load test

	HF	LF	VLF	TP
RRNN	+0.63			
TP	+0.88	+0.78	+0.94	
HF		+0.61	+0.74	
LF			+0.82	

**Таблица 8.** Корреляционная матрица (Спирмена) для показателей ВСП в группе исследования 2 после проведения нагрузочного теста**Table 8.** Correlation (Spearman's) matrix for HRV indicators in group 2 after the load test

	HF	LF	VLF	TP
RRNN	+0.52	+0.52		
TP	+0.79	+0.71	+0.86	
HF		+0.88	+0.52	
LF				

ного теста появляются корреляционные взаимоотношения между показателями RRNN и LF. Взаимодействие между симпатическим и парасимпатическим отделами ВНС усиливаются. После нагрузки отсутствует корреляция между параметрами LF и VLF, при этом в «исходном» состоянии выявлена корреляционная зависимость между симпатическим отделом ВНС и метаболическим звеном регуляции. Таким образом, основное влияние регуляции в ВСП после нагрузки в группе 2 принадлежит симпатическому отделу вегетативной нервной системы.

На третьем этапе исследования проведен дисперсионный анализ ANOVA показателей TP, LF, HF в группах исследования 1 и 2, которые достоверно ( $p < 0.05$ ) изменились после проведения когнитивного теста (рис. 1–3).

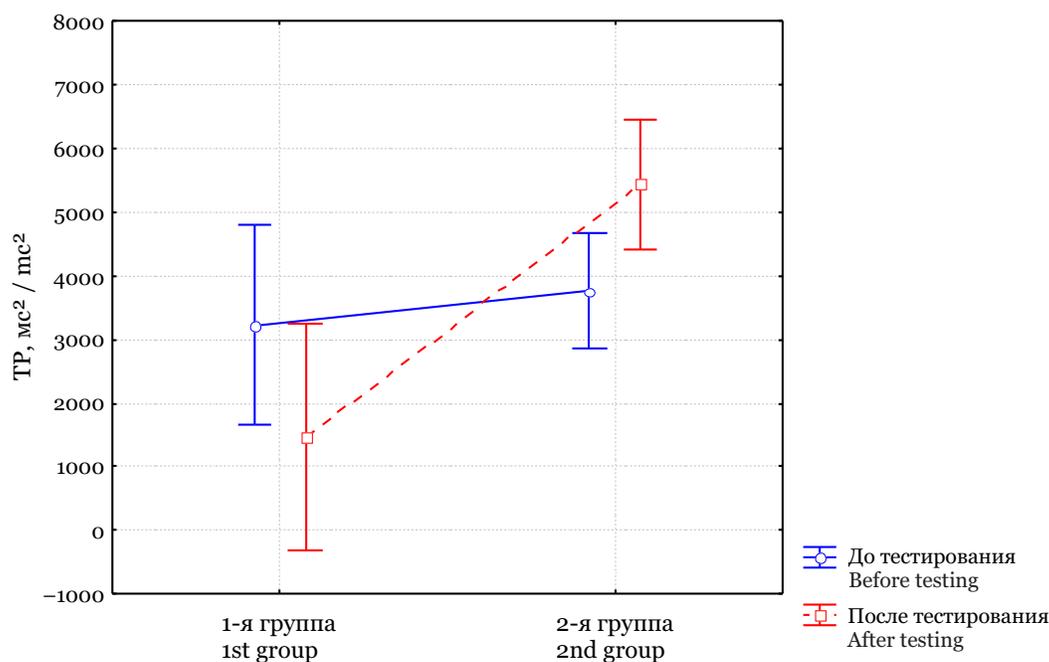
Как видно из представленных рисунков, показатели TP, LF, HF в «исходном» состоянии не отличаются в обеих группах исследования, однако после проведенного нагрузочного теста эти показатели достоверно ( $p < 0.05$ ) увеличиваются в группе 2 относительно группы 1.

Выявленные корреляционные отличия между показателями ВСП на момент подготовки к выполнению когнитивного нагрузочного теста позволяют предполагать, что ожидание предстоящей нагрузки определяет реакцию регуляторных механизмов ВСП на действие самой нагрузки (когнитивного теста). Таким образом, мы рассматриваем такой вариант регуляции как регуляцию

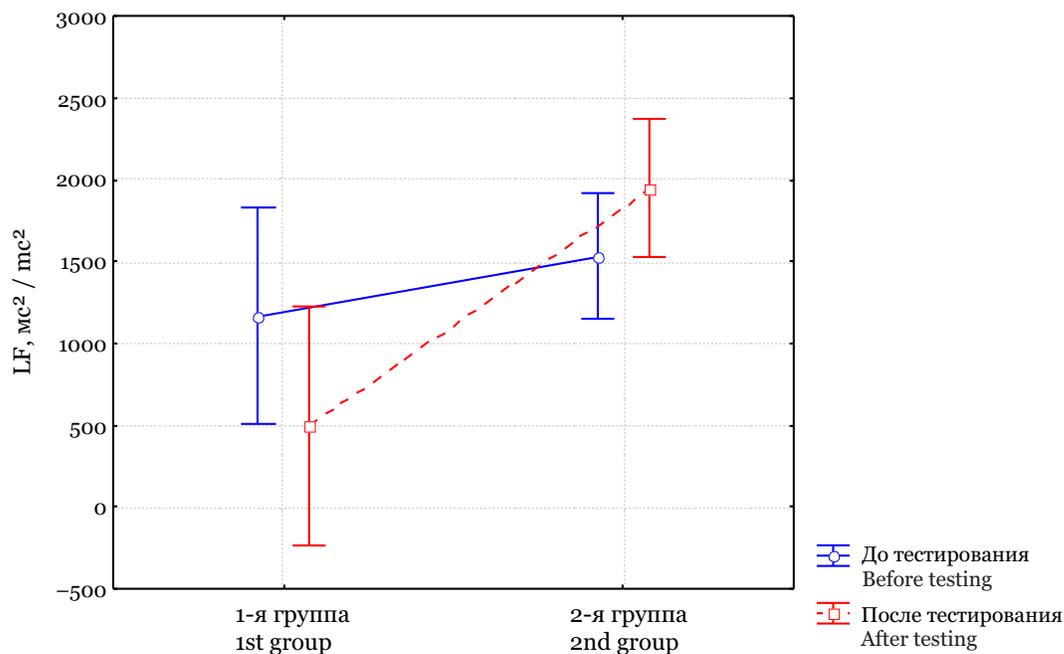
of the upcoming test determines the response of the HRV regulatory mechanisms to the action of the load itself (cognitive test). Thus, we consider such a variant of regulation as regulation ahead of schedule, while the regulatory mechanisms are switched on before a real change in the parameter of the regulated process (indicator). The conceptual basis for solving the problem of anticipatory adaptation can be the idea of antedating reflection, under which P.K. Anokhin understands adaptation to future events that have not yet occurred. The phenomenon of anticipatory adaptation was reflected in the work of A.A. Nalchadzhyan, who considers preliminary adaptation, or pre-adaptation, as one of the adaptive strategies used by people in problem situations [11].

## CONCLUSION

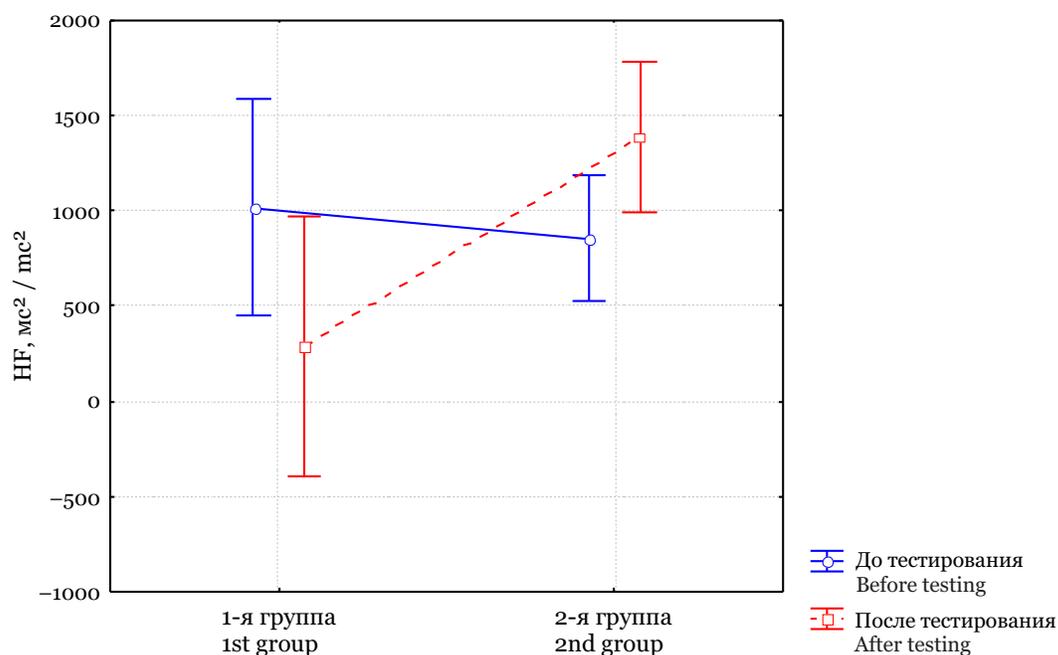
The results obtained indicate that different variants of cognitive loads contribute to a change in the activity of the ANS divisions in the regulation of HRV. The nature of these changes also depends on the baseline level of regulatory capabilities of HRV, which underlies the antedating response to the cognitive load presented. Cognitive load can be considered as a method for identifying the pathogenic mechanisms of the development of cardiovascular pathology. This approach is a particular version of a more fundamental pattern related to the problem of self-assessment of one's abilities. In essence, the tested students really assess their ability to perform



**Рис. 1.** Показатель TP в группах исследования 1 и 2 до и после проведения нагрузочного тестирования  
**Fig. 1.** TP indicator in groups 1 and 2 before and after the load test



**Рис. 2.** Показатель LF в группах исследования 1 и 2 до и после проведения нагрузочного тестирования  
**Fig. 2.** LF indicator in groups 1 and 2 before and after the load test



**Рис. 3.** Показатель HF в группах исследования 1 и 2 до и после проведения нагрузочного тестирования  
**Fig. 3.** HF indicator in groups 1 and 2 before and after the load test

по опережению, при этом регулирующие механизмы включаются до реального изменения параметра регулируемого процесса (показателя). Концептуальной основой решения проблемы упреждающей адаптации может выступать идея опережающего отражения, под которой П.К. Анохин понимает приспособление к будущим, еще не наступившим событиям. Явление упреждаю-

a certain test, and if for some it is not difficult to pass, then for others it causes the development of a stress reaction, which indicates various predetermined mechanisms for processing incoming information.

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

щей адаптации получило отражение в работе А.А. Налчаджяна, который рассматривает предварительную адаптацию, или преадаптацию, в качестве одной из адаптивных стратегий, используемых людьми в проблемных ситуациях [11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе исследования, свидетельствуют о том, что различные варианты когнитивных нагрузок способствуют изменению активности отделов ВНС в регуляции ВСР. Характер этих изменений также зависит от исходного уровня регуляторных возможностей ВСР, который лежит в основе опережающего варианта реагирования на предъявляемую когнитивную нагрузку. Когнитивную нагрузку можно рассма-

тривать как метод выявления патогенетических механизмов развития сердечно-сосудистой патологии. Такой подход является частным вариантом более фундаментальной закономерности, связанной с проблемой самооценки своих способностей. По существу, обследованные студенты реально оценивают свои возможности для выполнения определенного теста, и если для одних его прохождение не представляет сложностей, то для других он вызывает развитие стрессорной реакции, что свидетельствует о различных преддетерминированных механизмах обработки поступающей информации.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохин П.К. Теория отражения и современная наука о мозге. М.: Знание, 1970. 46 с.
2. Critchley H.D., Mathias C.J., Joseph O. et al. Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence // *Brain*. 2003;126(10):2139–2152. DOI: 10.1093/brain/awg216.
3. Fuentes-García J., Villafaina S., Collado-Mateo D. et al. Differences between high vs. low performance chess players in heart rate variability during chess problems // *Front. Psychol.* 2019;10:409. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.00409.
4. Manser P., Thalmann M., Adcock M. et al. Can reactivity of heart rate variability be a potential biomarker and monitoring tool to promote healthy aging? A systematic review with meta-analyses // *Front. Psychol.* 2021;12:686129. DOI: org/10.3389/fpsyg.2021.686129.
5. Георгиевский А.Б. Эволюция адаптаций: историко-методологическое исследование. Л.: Наука, 1989. 187 с.
6. Бань А.С., Загородный Г.М. Вегетативный показатель для оценки variability ритма сердца спортсменов // *Мед. журн.* 2010;4(34):127–130.
7. Арчибасова Е.А., Куликов В.Ю., Воевода М.И. Особенности регуляции variability ритма сердца при различных вариантах когнитивной нагрузки у студентов // *Сиб. мед. вестн.* 2021;1:57–67. DOI: 10.31549/2541-8289-2021-1-57-67.
8. Solhjoo S., Haigney M.C., McBee E. et al. Heart rate and heart rate variability correlate with clinical reasoning performance and self-reported measures of cognitive load // *Sci. Rep.* 2019;9(1):14668. DOI: 10.1038/s41598-019-50280-3.
9. Huth A.G., de Heer W.A., Griffiths T.L., Theunissen F.E., Gallant J.L. Natural speech reveals the semantic maps that tile human cerebral cortex // *Nature*. 2016;532:453–458. DOI: 10.1038/nature17637.
10. Scult M.A., Knodt A.R., Swartz J.R., Brigidi B.D., Hariri A.R. Thinking and feeling: individual differences in habitual emotion regulation and stress-related mood are associated with prefrontal executive

## REFERENCES

1. Anokhin P.K. (1970). *Reflection Theory and Modern Brain Science*. Moscow: Znanie. 46 p. (In Russ.)
2. Critchley H.D., Mathias C.J., Joseph O. et al. Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence. *Brain*. 2003;126(10):2139–2152. DOI: 10.1093/brain/awg216.
3. Fuentes-García J., Villafaina S., Collado-Mateo D. et al. Differences between high vs. low performance chess players in heart rate variability during chess problems. *Front. Psychol.* 2019;10:409. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.00409.
4. Manser P., Thalmann M., Adcock M. et al. Can reactivity of heart rate variability be a potential biomarker and monitoring tool to promote healthy aging? A systematic review with meta-analyses. *Front. Psychol.* 2021;12:686129. DOI: org/10.3389/fpsyg.2021.686129.
5. Georgievskiy A.B. (1989). *The Evolution of Adaptations: A Historical and Methodological Study*. Leningrad: Nauka. 187 p. (In Russ.)
6. Ban A.S., Zagorodnyj G.M. Vegetative indicator for assessing the heart rate variability of athletes. *Med. Journal*. 2010;4(34):127–130. (In Russ.)
7. Archibasova E.A., Kulikov V.Yu., Voevoda M.I. Peculiarities of regulation of heart rate variability in different variants of cognitive load in students. *Siberian Medical Bulletin*. 2021;1:57–67. DOI: 10.31549/2541-8289-2021-1-57-67. (In Russ.)
8. Solhjoo S., Haigney M.C., McBee E. et al. Heart rate and heart rate variability correlate with clinical reasoning performance and self-reported measures of cognitive load. *Sci. Rep.* 2019;9(1):14668. DOI: 10.1038/s41598-019-50280-3.
9. Huth A.G., de Heer W.A., Griffiths T.L., Theunissen F.E., Gallant J.L. Natural speech reveals the semantic maps that tile human cerebral cortex. *Nature*. 2016;532:453–458. DOI: 10.1038/nature17637.
10. Scult M.A., Knodt A.R., Swartz J.R., Brigidi B.D., Hariri A.R. Thinking and feeling: individual differences in habitual emotion regulation and stress-related mood are associated with prefrontal execu-

control // *Clin. Psychol. Sci.* 2017;5:150–157. DOI: 10.1177/2167702616654688.

11. Налчаджян А.А. Социально-психическая адаптация личности (формы, механизмы и стратегии). Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1988. 262 с.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Арчибасова Елена Алексеевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной физиологии и основ безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-8482-3319.

**Куликов Вячеслав Юрьевич** – д-р мед. наук, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры нормальной физиологии и основ безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Воевода Михаил Иванович** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия.

tive control. *Clin. Psychol. Sci.* 2017;5:150–157. DOI: 10.1177/2167702616654688.

11. Nalchadzhyan A.A. (1988). *Social and Psychic Adaptation of Personality (Forms, Mechanisms and Strategies)*. Yerevan. 262 p. (In Russ.)

### ABOUT THE AUTHORS

**Elena A. Archibasova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Normal Physiology and Fundamentals of Life Safety, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8482-3319.

**Vyacheslav Yu. Kulikov** – Dr. Sci. (Med.), Honored Scientist of the Russian Federation, Professor, Department of Normal Physiology and Fundamentals of Life Safety, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Mikhail I. Voevoda** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia.



## Разработка гранулята на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью

В.С. Марьюшкина, О.Н. Абросимова, Е.В. Куваева, Ю.М. Ладутько

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

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Амидины обладают достаточно высокой биологической активностью. Одним из аспектов их терапевтического действия является противовоспалительный эффект. Поэтому разработка технологии гранулята на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью, для последующего дозирования в кишечнорастворимые капсулы является актуальным вопросом на сегодняшний день.

**Ц е л ь .** Разработать гранулят на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью, для последующего дозирования в кишечнорастворимые капсулы.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В качестве действующего вещества использовали экспериментально синтезированную субстанцию N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида и вспомогательные вещества: лактозу моногидрат, крахмал гликолят натрия (Explotab®), повидон (Plasdone™ K-29/32). Гранулят получали методом продавливания влажных масс. Полученный гранулят дозировали в кишечнорастворимые капсулы. Технологические свойства субстанции и показатели качества гранулята и капсул определяли по методикам, описанным в Государственной фармакопее РФ XIV изд-я (ГФ XIV).

**Р е з у л ь т а т ы .** По результатам исследования технологических свойств установлено, что субстанция обладает плохой сыпучестью, достаточно легкая и объемная, основная фракция порошка представляет собой частицы размером до 0.1 мм. Для улучшения сыпучести и снижения гигроскопичности гранулируемого материала в качестве наполнителя использовали лактозу моногидрат. В качестве связующего вещества был выбран 5% раствор Plasdone K-29/32, улучшающий растворение и биодоступность лекарственных веществ за счет образования водорастворимых комплексов. В качестве дезинтегранта использовали крахмал гликолят натрия. Полученный гранулят дозировали в кишечнорастворимые капсулы, соответствующие требованиям ГФ XIV.

**З а к л ю ч е н и е .** Предложен метод синтеза и синтезирована субстанция N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида, обладающая фармакологической активностью. Подобраны вспомогательные вещества с учетом свойств субстанции, разработаны состав и технология гранулята на основе ранее синтезированной субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида, с последующим дозированием в кишечнорастворимые капсулы, предложен проект спецификации на кишечнорастворимые капсулы в соответствии с требованиями ГФ XIV.

**Ключевые слова:** амидины, субстанция N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида, гранулят, кишечнорастворимые капсулы, противовоспалительное действие.

**Образец цитирования:** Марьюшкина В.С., Абросимова О.Н., Куваева Е.В., Ладутько Ю.М. Разработка гранулята на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):28–41. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-28-41

## Development of a granulate based on amidines with anti-inflammatory activity

V.S. Mar'yushkina, O.N. Abrosimova, E.V. Kuvayeva, Yu.M. Ladutko

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Amidines have a fairly high biological activity. One aspect of their therapeutic action is the anti-inflammatory effect. Therefore, the development of a granulate technology based on amidines with anti-inflammatory activity for subsequent dosing into enteric capsules is an issue of interest today.

Поступила в редакцию 06.11.2021  
Прошла рецензирование 10.12.2021  
Принята к публикации 11.01.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Абросимова Олеся Николаевна: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. 197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14А.  
E-mail: olesya.abrosimova@pharminnotech.com

Received 06.11.2021  
Revised 10.12.2021  
Accepted 11.01.2022

*Corresponding author*  
Olesya N. Abrosimova: Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint Petersburg, 197376, Russia.  
E-mail: olesya.abrosimova@pharminnotech.com

**A i m .** To develop a granulate based on amidines with anti-inflammatory activity for subsequent dosing into enteric capsules.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** An experimentally synthesized substance N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide and excipients: lactose monohydrate, sodium starch glycolate (Explotab®), povidone (Plasdone™ K-29/32) were used as the active substance. The granulate was obtained by pressing wet masses through. The resulting granulate was dosed into enteric capsules. The technological properties of the substance and the quality attributes of the granulate and capsules were determined according to the methods described in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, edition XIV (SP XIV).

**R e s u l t s .** According to the results of the study of technological properties, it was found that the substance has poor flowability, is quite light and bulky, the main fraction of the powder is particles up to 0.1 mm in size. To improve the flowability and reduce the hygroscopicity of the granulated material, lactose monohydrate was used as a filler. A 5% solution of Plasdone K-29/32 was chosen as a binder, which improves the dissolution and bioavailability of drugs due to the formation of water-soluble complexes. Sodium starch glycolate was used as a disintegrant. The resulting granulate was dosed into enteric capsules that meet the SP XIV requirements.

**C o n c l u s i o n .** A synthesis method was proposed and a substance of N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide with pharmacological activity was synthesized. Excipients were selected taking into account the properties of the substance, composition and technology of the granulate based on the previously synthesized substance N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide was developed, followed by dosing into enteric capsules, a draft specification for enteric capsules was proposed in accordance with the SP XIV requirements.

**Keywords:** amidines, N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance, granulate, enteric capsules, anti-inflammatory effect.

**Citation example:** Mar'yushkina V.S., Abrosimova O.N., Kuvaeva E.V., Ladutko Yu.M. Development of a granulate based on amidines with anti-inflammatory activity. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):28–41. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-28-41

## ВВЕДЕНИЕ

Амидины обладают достаточно высокой биологической активностью. Функциональный фрагмент амидинов, который обычно является частью гетероцикла, входит в структуру многих лекарственных препаратов, например, нафазолина, ксилометазолина, галазолина, фентоламина, хлордиазепоксида. Некоторые из амидинов в виде гидросульфонов используются в химиотерапевтической практике [1, 2].

Производное ацетамида – фенокаин – достаточно широко используется в офтальмологической практике в качестве местного анестезирующего средства. Также известны циклические амидины, которые были выделены из плодового тела «американского гриба». Они обладают антибактериальной и антигельминтной активностью. Также известно, что структурные аналоги циклических амидинов обладают противопротозойной, антидепрессантной и антигипертензивной активностью. Нельзя не заметить и то, что многие из амидинов являются исходными соединениями в синтезе гетероциклических структур, таких как производные пиридина. Для примера можно привести известный витамин B<sub>1</sub> – тиамин. При его получении используется 3-этапный синтез. В качестве исходного соединения на первом этапе используется ацетамидин [1–4].

## INTRODUCTION

Amidines have a fairly high biological activity. The functional fragment of amidines, which is usually part of a heterocycle, is included in the structure of many drugs, for example, naphazoline, xylometazoline, galazolin, phentolamine, chlordiazepoxide. Some of the amidines in the form of hydrosulfonates are used in chemotherapeutic practice [1, 2].

An acetamide derivative, phenocaine, is widely used in ophthalmic practice as a local anesthetic. Also known are cyclic amidines, which were isolated from the fruiting body of the “american mushroom”. They have antibacterial and anthelmintic activity. It is also known that structural analogues of cyclic amidines have antiprotozoal, antidepressant and antihypertensive activity. It should also be noted that many of the amidines are parent compounds in the synthesis of heterocyclic structures, such as pyrimidine derivatives. An example is the well-known vitamin B<sub>1</sub> – thiamine. For its manufacturing, a 3-stage synthesis is used. Acetamide is taken as the parent compound at the first stage [1–4].

To date, the chemistry of amidines is of considerable interest to researchers due to the wide distribution of this class of compounds in organic synthesis. Amidines have high biological activity. One of the aspects of their therapeutic action is the anti-inflammatory effect [1]. Therefore, the development of a

На сегодняшний день химия амидинов вызывает значительный интерес исследователей в связи с широким распространением этого класса соединений в органическом синтезе. Амидины обладают высокой биологической активностью. Одним из аспектов их терапевтического действия является противовоспалительный эффект [1]. Поэтому разработка технологии гранулята на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью, с последующим дозированием в кишечнорастворимые капсулы является актуальным вопросом на сегодняшний день.

Социальная значимость воспалительных заболеваний растет во всем мире, что определяет необходимость разработки новых противовоспалительных препаратов. В последние годы в патогенезе целого ряда распространенных заболеваний (бронхиальная астма, остеопороз) доказано участие воспалительных реакций. Сложность разработки эффективных и в то же время безопасных средств для лечения воспаления заключается в том, что сам патологический процесс является комплексным и в своем развитии затрагивает практически все системы организма человека. Пути воспалительных реакций реализуются как на уровне внутриклеточных взаимодействий сигнальных каскадов, так и на уровне регуляции продукции медиаторов воспаления. Таким образом, влияние только на одну мишень патогенеза либо не сопровождается достаточным фармакологическим эффектом, либо вызывает ряд побочных явлений [5, 6].

Известно, что соединения, которые ингибируют фермент циклооксигеназу (ЦОГ), проявляют три основных вида биологической активности: анальгезирующую, противовоспалительную, жаропонижающую и принадлежат к группе нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) [7].

На сегодняшний день нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) занимают одну из ведущих позиций на мировом рынке лекарственных средств. По некоторым данным во всем мире более 30 млн чел. вынуждены принимать их постоянно, 300 млн принимают их хотя бы кратковременно [8].

На основании маркетингового анализа [9] выделены характерные черты розничного регионального рынка НПВП: на рынке представлено около трети (30.2 %) всех НПВП, зарегистрированных в РФ; группа представлена в основном препаратами импортного производства (74.3 %), несмотря на то, что отечественные препараты занимают 43.1 % от всех НПВП, включенных в Государственный реестр лекарственных средств. В табл. 1 приведены основные представители

granulate technology based on amidines with anti-inflammatory activity, followed by dosing into enteric capsules, is a topical issue today.

The social significance of inflammatory diseases is growing all over the world, which determines the need to develop new anti-inflammatory drugs. In recent years, the involvement of inflammatory reactions in the pathogenesis of a number of common diseases (bronchial asthma, osteoporosis) has been proven. The complexity of the development of effective and at the same time safe drugs for the treatment of inflammation lies in the fact that the pathological process itself is sophisticated, and in its development affects almost all systems of the human body. Pathways of inflammatory responses are implemented both at the level of intracellular interactions of signaling cascades and at the level of regulation of the production of inflammatory mediators. Thus, the effect on only one target of pathogenesis is either not accompanied by a sufficient pharmacological effect or causes a number of side effects [5, 6].

It is known that compounds which inhibit the cyclooxygenase (COX) enzyme exert three main types of biological activity: analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and belong to the group of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [7].

Today, NSAIDs occupy one of the leading positions in the global drug market. According to some estimates, more than 30 million people worldwide are forced to take them constantly, 300 million take them at least for a short time [8].

Based on the marketing analysis [9], the characteristic features of the retail regional NSAIDs market were identified: about a third (30.2%) of all NSAIDs registered in the Russian Federation are represented on the market; the group is represented mainly by foreign-made drugs (74.3%), despite the fact that domestic drugs account for 43.1% of all NSAIDs included in the State Register of Medicines. Table 1 presents the main representatives of NSAIDs, which are most often in demand among the population of St. Petersburg.

The NSAIDs market is predominantly represented by solid (54.8%) dosage forms, as well as semisolid (20.0%) and injectables (15.2%) (Fig. 1) [8].

NSAIDs have a number of pharmacological effects, namely: anti-inflammatory, analgesic and antipyretic. In this regard, NSAIDs can be used for various pathologies: diseases of the musculoskeletal system (rheumatoid arthritis, rheumatism, ankylosing spondylitis, chronic gouty arthritis, arthrosis deformans, osteochondrosis, etc.) – anti-inflammatory effect; in pain treatment (headache, joint and other types of pain) – analgesic effect; in the treat-

**Таблица 1.** Наиболее часто используемые потребителями НПВП в соответствии с международным непатентованным наименованием (МНН) [9, 10]

**Table 1.** Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) most commonly used by consumers, according to the International Nonproprietary Name (INN) [9, 10]

№ No.	МНН INN	Торговые названия НПВП, % Trade names of NSAIDs, %			Торговое название Tradename
		Врач Doctor	Провизор/ фармацевт Pharmacist	Посетитель аптеки Pharmacy visitor	
1	Нимесулид / Nimesulide	62.8	77.0	37.7	Найз, 20 таб. / Nise, 20 tab.
2	Кеторолак / Ketorolac	82.3	67.5	17.2	Кеторол, 20 таб. / Ketorol, 20 tab.
3	Ибупрофен / Ibuprofen	39.8	92.1	26.4	Нурофен, 20 таб. / Nurofen, 20 tab.
4	Диклофенак / Diclofenac	55.8	53.2	6.4	Вольтарен, 20 таб. / Voltaren, 20 tab.
5	Метамизол натрия Metamizole sodium	17.7	54.8	40.0	Анальгин, 20 таб. / Analgin, 20 tab.
6	Мелоксикам / Meloxicam	33.6	23.0	1.6	Амелотекс, 20 таб. / Amelotex, 20 tab.
7	Ацеклофенак / Aceclofenac	16.8	17.5	1.5	Аленталь, 20 таб. / Alenthal, 20 tab.
8	Ацетилсалициловая кислота Acetylsalicylic acid	4.4	16.7	5.1	Ацетилсалициловая кислота, 20 таб. Acetylsalicylic acid, 20 tab.
9	Кетопрофен / Ketoprofen	10.6	9.5	1.8	Кетонал, 20 таб. / Ketonal, 20 tab.
10	Напроксен / Naproxen	0.9	9.5	2.1	Мотрин, 20 таб. / Motrin, 20 tab.

Примечание. НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; таб. – таблетки.

Note. NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; tab. – tablets.

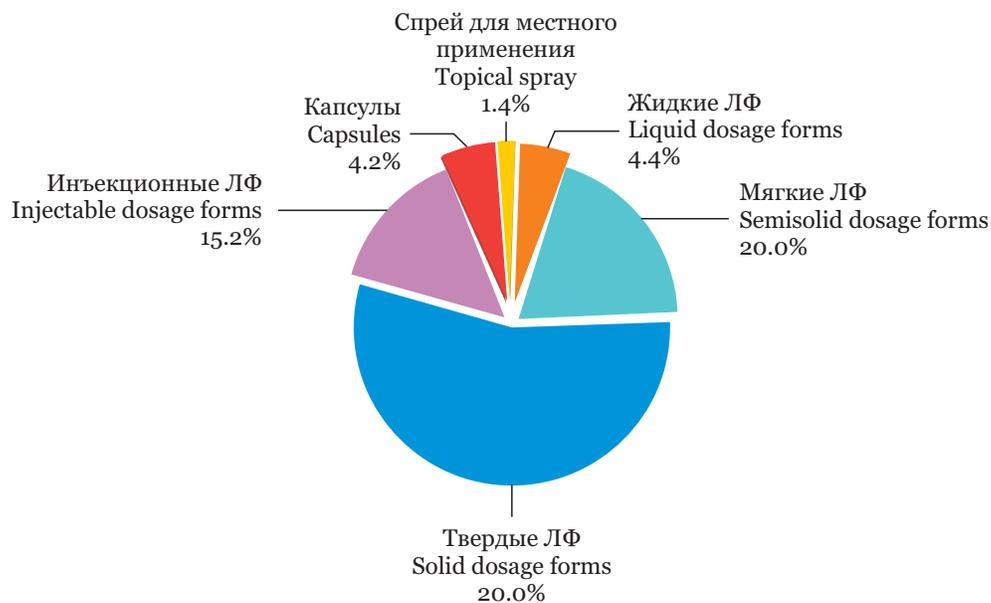
НПВС, которые чаще всего пользуются спросом среди населения г. Санкт-Петербурга.

Рынок НПВП преимущественно представлен твердыми (54.8 %) лекарственными формами, а также мягкими (20.0 %) и препаратами для инъекций (15.2 %) (рис. 1) [8].

НПВП обладают рядом фармакологических эффектов, а именно: противовоспалительным, анальгезирующим и антипиретическим. В связи

с наличием у них способности к снижению температуры тела – жаропонижающим действием.

Сторонние эффекты НПВП связаны с ингибированием различных COX изоэнзимов. При преимущественном ингибировании COX-1, характерна гастроинтестинальная токсичность вплоть до язвенного эффекта. При высокоселективном ингибировании COX-2, характерна повышенная опасность острых сердечно-сосудистых осложнений из-за дисбаланса в



**Рис. 1.** Распределение зарегистрированных НПВП по виду лекарственной формы (ДФ)  
**Fig. 1.** Distribution of registered NSAIDs by type of dosage form (DF)

с этим НПВП могут применяться при различных патологиях: заболеваниях опорно-двигательного аппарата (ревматоидный артрит, ревматизм, анкилозирующий спондилит, хронический подагрический артрит, деформирующий остеоартроз, остеохондроз и др.) – противовоспалительный эффект; при болях (головная, суставная и другие виды боли) – анальгезирующий эффект; при лечении лихорадки – антипиретическая активность. Ряд препаратов данной группы могут использоваться как неопиоидные анальгетики или как НПВП (в зависимости от дозы) [11, 12].

Побочные эффекты НПВП связаны с ингибированием различных изоферментов ЦОГ. При преимущественном ингибировании ЦОГ-1 характерна гастротоксичность вплоть до ulcerогенного действия. При высокоселективном ингибировании ЦОГ-2 характерно повышение риска острых сердечно-сосудистых событий в связи с нарушением равновесия синтеза тромбоксана А2 и простаглицина. Также имеются определенные общие побочные эффекты (аллергические реакции, тошнота, рвота, диспепсия) [11–13].

Основными противопоказаниями к применению НПВП являются: язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, беременность, лактация, склонность к аллергии, нарушение кроветворения и гемостаза [11].

В связи с этим остается актуальным создание новых противовоспалительных средств.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать гранулят на основе амидинов, обладающих противовоспалительной активностью, для последующего дозирования в кишечнорастворимые капсулы.

## МАТЕРИАЛЫ

Лактозы моногидрат (CAS 10039-26-6, Meelunie B.V., Нидерланды), крахмал гликолят натрия (Explotab®) (CAS 9063-38-1, JRS PHARMA GmbH & Co. KG), повидон (Plasdone™ K-29/32) (CAS 9003-39-8, Ashland Inc., США), стеарат кальция (химически чистый, ООО «Реактив», Россия). Синтез и получение субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида осуществлялись на кафедре органической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета.

## МЕТОДЫ

1. Процессуальная схема получения субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида (рис. 2).

the synthesis of thromboxane A2 and prostacyclin. There are also certain common side effects (allergic reactions, nausea, vomiting, dyspepsia) [11–13].

The main contraindications to the use of NSAIDs are: peptic ulcer, pregnancy, lactation, a tendency to allergies, hematopoiesis and hemostasis disorders [11].

In this regard, the creation of new anti-inflammatory drugs remains relevant.

## AIM OF THE RESEARCH

To develop a granulate based on amidines with anti-inflammatory activity for subsequent dosing into enteric capsules.

## MATERIALS

Lactose monohydrate (CAS 10039-26-6, Meelunie B.V., Netherlands), sodium starch glycolate (Explotab®) (CAS 9063-38-1, JRS PHARMA GmbH & Co. KG), povidone (Plasdone™ K-29/32 polymer) (CAS 9003-39-8, Ashland Inc., USA), calcium stearate (chemically pure, Реактив-RF, OJSC, Russia). The synthesis and preparation of the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance was carried out at the Department of Organic Chemistry of the St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University.

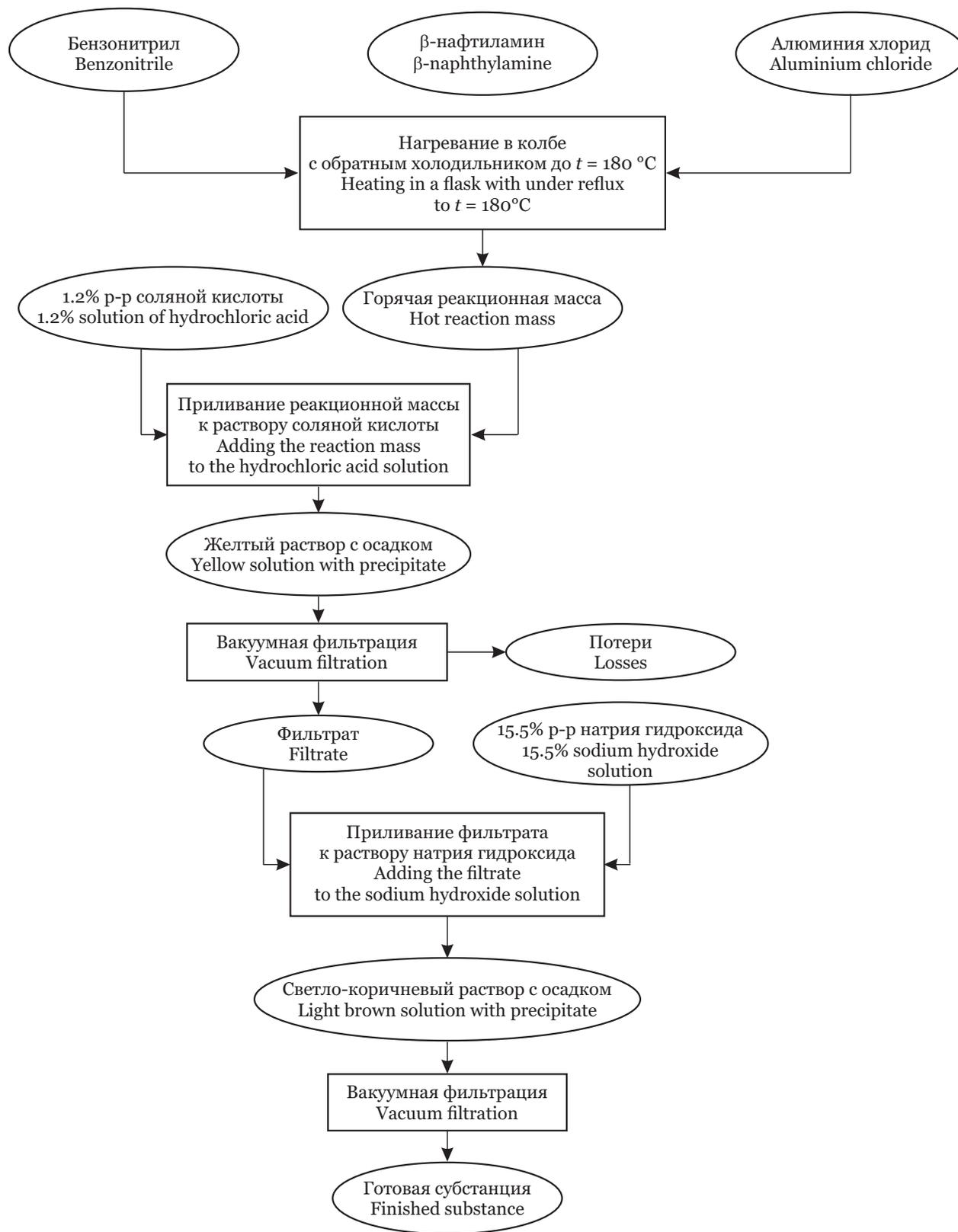
## METHODS

1. Process flow diagram for preparation the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance (Fig. 2).

2. Studying the pharmacological activity of a substance using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) online program

This software evaluates probable biological activity profiles for test compounds based on their structural formulas. The total list of predicted biological activities consists of more than 4000 terms, including pharmacotherapeutic effects, biochemical mechanisms, toxicity, metabolism, regulation of gene expression. The PASS prediction is based on structure – activity relationships for over 260 000 compounds with known biological activity, with an average accuracy of about 95%.

According to the PASS prediction data, amidines are COX inhibitors (Table 2) and should have a pronounced anti-inflammatory effect. At the same time, the probability of an analgesic effect in these forecasts is quite low [5]. The obtained substance was evaluated according to the following criteria: Probability to be active (Pa) – the probability that the test compound belongs to the active subclass according to this criterion, and Probability to be inactive (Pi) –



**Рис. 2.** Процессуальная схема получения субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида  
**Fig. 2.** Process flow diagram for the production of the N-(naphthalene-2-yl)benzenecarboximidamide substance

**2. Изучение фармакологической активности субстанции с помощью онлайн-программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances)**

Данное программное обеспечение оценивает вероятные профили биологической активности для исследуемых соединений на основе их структурных формул. Общий список предсказываемых биологических активностей состоит из более чем 4000 терминов, включая фармакотерапевтические эффекты, биохимические механизмы, токсичность, метаболизм, регуляцию экспрессии генов. Прогноз PASS основан на базе о взаимосвязях «структура – активность» для более чем 260 000 соединений с известной биологической активностью, и его средняя точность составляет около 95 %.

В соответствии с данными прогноза системы PASS амидины являются ингибиторами ЦОГ (табл. 2) и должны обладать выраженным противовоспалительным эффектом. Вместе с тем вероятность анальгезирующего действия в данных прогнозах довольно низка [5]. Полученная субстанция была оценена по следующим критериям: Probability to be active (Pa) – вероятность того, что исследуемое соединение относится к подклассу активных по данному критерию, и Probability to be inactive (Pi) – вероятность того, что исследуемое соединение относится к подклассу неактивных по данному критерию.

Однако с точки зрения перспективы разработки и внедрения новых лекарственных средств интерес представляют не только те виды биологической активности, достоверность прогноза которых для данного соединения высока, но и те, для которых она низка [5]. В связи с этим остается актуальным создание новых противовоспалительных средств.

the probability that the test compound belongs to the inactive subclass according to this criterion.

However, from the perspective of the development and introduction of new drugs, not only those types of compounds with the high reliability of the biological activity prognosis are of interest, but also those with a low one [5]. In this regard, the development of new anti-inflammatory drugs remains relevant.

**3. Preparation of granulate in a laboratory setting**

The N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance and excipients were sifted through a sieve with a 0.5 mm size mesh. The components included in the granulate were weighed on a Sartogosc CE623-C balance with an accuracy of 0.001 g, in a laboratory mixer with a volume of 0.5 l (Bosch GmbH, Germany), pre-mixing of the components was carried out, and then – wet granulation. The powder mixture was moistened with Plasdone™ K-29/32 aqueous solution. The humidifier consumption was measured on the Sartogosc CE623-C balance. The wet mass was granulated through a sieve with a mesh size of 2 mm, then dried to a residual humidity of 2% in an oven at a temperature of 50°C. The dried granulate was calibrated through a sieve with a mesh size of 1 mm. The lubricant (calcium stearate) was sifted through a sieve with 0.25 mm size mesh. The granulate was mixed with the lubricant for 5 minutes. 100.0 g of granulate was obtained in a laboratory setting.

**4. Dosing of granules into enteric capsules**

The resulting granulate was dosed using a Pro-Filler 1100 capsule filling machine (Capsule Connection, LLC, USA) for manual filling of capsules into white DRcaps® enteric capsules (Capsugel, Inc., USA), size 1. In one cycle, the machine fills 100 capsules.

**Таблица 2.** Результаты прогнозирования биологической активности субстанции N-(нафталин-2-ил) бензолкарбоксимидамида [14]

**Table 2.** The results of predicting the biological activity of the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance [14]

Pa	Pi	Спектры биологической активности / Biological activity spectra
0750	0007	Ингибитор L-глутаматоксидазы / L-glutamate oxidase inhibitor
0742	0003	Субстрат CYP2C18 / CYP2C18 substrate
0754	0019	НАДФН ингибитор пероксидазы / NADPH peroxidase inhibitor
0731	0009	Регулятор липидного обмена / Lipid metabolism regulator
0752	0031	Ингибитор глюконат-2-дегидрогеназы (акцептор) / Gluconate-2-dehydrogenase inhibitor (acceptor)
0724	0004	Ингибитор инданолдегидрогеназы / Indanol dehydrogenase inhibitor
0724	0013	Противовоспалительное средство / Anti-inflammatory agent
0705	0002	Ингибитор циклооксигеназы 3 / Cyclooxygenase-3 inhibitor
0713	0013	Фталат 4,5-диоксигеназы / Phthalate 4,5-dioxygenase
0717	0020	Ингибитор 5-O-(4-кумароил)-D-хината 3 монооксигеназы / 5-O-(4-coumaroyl)-D-quininate 3 monoxygenase inhibitor

### 3. Получение гранулята в лабораторных условиях

Субстанцию N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида и вспомогательные вещества просеивали через сито с размером ячеек 0.5 мм. Компоненты, входящие в состав гранулята, взвешивали на весах «Сартогосм CE623-C» (ООО «Сартогосм», Россия) с точностью 0.001 г, в лабораторном смесителе объемом 0.5 л (Bosch GmbH, Германия), предварительно осуществляли смешивание компонентов, а затем – влажное гранулирование. Смесь порошков увлажняли водным раствором Plasdone™ K-29/32. Расход увлажнителя измеряли на весах «Сартогосм CE623-C». Влажную массу гранулировали через сито с размером ячеек 2 мм, затем сушили до остаточной влажности 2% в сушильном шкафу при температуре 50 °С. Высушенный гранулят калибровали через сито с размером ячеек 1 мм. Лубрикант (стеарат кальция) просеивали через сито с размером ячеек 0.25 мм. Гранулят перемешивали с лубрикантом в течение 5 мин. В лабораторных условиях получали 100.0 г гранулята.

### 4. Дозирование гранулята в кишечнорастворимые капсулы

Полученный гранулят дозировали с помощью машины ProFiller 1100 (Capsule connection, LLC, США) для ручного наполнения капсул в кишечнорастворимые капсулы DRcaps® компании Capsugel, Inc. (США) белого цвета, размер 1. За один цикл машина наполняет 100 капсул.

### 5. Исследование технологических свойства активной фармацевтической субстанции (АФС) и гранулята

Технологические свойства АФС и гранулята: фракционный состав – ситовой анализ (электромагнитный ситовой шейкер RP 200N (CISA, Испания)), степень сыпучести и угол естественного откоса (тестер сыпучести GT D-63150 (ERWEKA, Германия)), насыпная плотность (тестер насыпной плотности SVM 221 (ERWEKA, Германия)), прессуемость (тестер твердости таблеток ТВН 125 TDP (ERWEKA, Германия)), остаточная влажность (анализатор влажности MA-45 (Sartorius, Германия)) – определяли по методикам, описанным в Государственной фармакопее XIV издания (ГФ XIV) [15].

### 6. Исследование показателей качества капсул

Однородность массы (аналитические весы Сартогосм CE224-C (ООО «Сартогосм», Россия)), распадаемость капсул (тестер распадаемости таблеток ZT 322 m (ERWEKA, Германия)), однородность дозирования (аналитические весы

### 5. Investigation of the technological properties of the active pharmaceutical ingredient (API) and granulate

Technological properties of API and granulate: fractional composition – sieve analysis (RP 200N digital sieve shaker (CISA, Spain)), degree of flowability and angle of repose (GT D-63150 flow tester (ERWEKA, GmbH, Germany)), bulk density (SVM 221 tapped density tester (ERWEKA, GmbH, Germany)), compressibility (ТВН 125 TDP tablet hardness tester (ERWEKA, Germany)), residual moisture (Sartorius MA-45 moisture analyzer (Sartorius, GmbH, Germany)) – were determined according to the methods described in the State Pharmacopoeia, edition XIV (SP XIV) [15].

### 6. Study of capsule quality indicators

Weight uniformity (Sartogsm CE224-C analytical balance (Sartogsm, LLC, Russia)), capsule disintegration (ZT 322 m tablet disintegration tester (ERWEKA, GmbH, Germany)), dosing uniformity (Sartogsm CE224-C analytical balance), dissolution (DT 820 dissolution tester (ERWEKA, GmbH, Germany)) was determined according to the methods described in SP XIV [15].

Quantitative determination of API was carried out by potentiometric titration in an aqueous-ethanol solution of potassium nitrate, titrant – 0.1 M hydrochloric acid solution.

## RESULTS AND DISCUSSION

For the purpose of theoretical substantiation of the granulate composition and the choice of the granulation method, the API technological properties, N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide were studied (Table 3).

According to the results of the study of technological properties, it can be seen that the substance has poor flowability, is quite light and bulky, the main fraction of the powder is particles up to 0.1 mm in size.

Thus, it has been established that the introduction of the granulation stage into the technological process of the production of solid enteric capsules based on the substance is necessary for the directed particle size increase and improvement of flow, thereby increasing the accuracy of dosing.

The previously synthesized substance N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide was used as the main substance in the granules, its mass per one capsule will be 100 mg, therefore the introduction of excipients is necessary.

When manufacturing granules, the technological processes and excipients adopted in tableting are used. The introduction of a filler into the composition of the granulated mass is necessary to gain the

«Сартогосм СЕ224-С»), растворение (тестер для определения показателя «Растворение» серии DT 820 (ERWEKA, Германия)) определяли по методикам, описанным в ГФ XIV [15].

Количественное определение АФС проводили методом потенциометрического титрования в среде водно-спиртового раствора нитрата калия, титрант – 0.1 М раствор хлористоводородной кислоты.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью теоретического обоснования состава гранулята и выбора метода гранулирования были изучены технологические свойства АФС – N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида (табл. 3).

По результатам исследования технологических свойств видно, что субстанция обладает плохой сыпучестью, достаточно легкая и объемная, основная фракция порошка представляет собой частицы размером до 0.1 мм.

Таким образом, установлено, что введение стадии гранулирования в технологический процесс производства твердых кишечнорастворимых капсул на основе субстанции является необходимым для направленного увеличения частиц и улучшения сыпучести, тем самым повышая точность дозирования.

В качестве основного вещества в составе гранул использовали ранее синтезированную субстанцию N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида, масса в одной капсуле будет составлять

required mass at a small dosage of API, to improve flow and reduce the hygroscopicity of the granulate. Based on the literature data [16] and previous experiments, it was shown that lactose has the highest flow properties, due to the spherical shape of the particles and a rather high bulk density.

Binders are used to improve flowability, increase the accuracy of granulate dosing, and also ensure its proper technological properties. For substances that form crumbly, poorly granulated masses with water and ethanol, or whenever the active substance is poorly soluble both in water and ethanol, sugar syrup or polyvinylpyrrolidone solutions are used. Therefore, a 5% solution of Plasdone K-29/32 was chosen as a binder. The advantages of this solution are easy solubility in water and ethanol, as well as an ability to improve the dissolution and bioavailability of drugs through the formation of water-soluble complexes [17, 18].

Since the substance is insoluble in water, it is necessary to introduce disintegrants into the formulation of the granulate. Disintegrants are introduced into the granulate to improve their disintegration in the gastrointestinal tract, which is necessary for rapid release and subsequent absorption. Disintegration occurs due to the rapid absorption of liquid followed by rapid swelling, therefore, the granules will be rapidly disintegrated [19]. Sodium starch glycolate was used as a disintegrant. Table 4 shows the technological properties of the obtained granulate.

The resulting granulate satisfies the SP XIV requirements and is an semi-finished product for a solid dosage form.

**Таблица 3.** Технологические свойства субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида  
**Table 3.** Technological properties of the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance

Показатель качества Quality attribute	Результаты испытаний Test result
Описание / Description	Аморфный порошок коричневого цвета с характерным резким запахом Amorphous brown powder with a strong odor
Сыпучесть, г/с   Flowability, g/s	1.235 ± 0.062
Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>   Bulk density, g/cm <sup>3</sup>	0.599 ± 0.030
Коэффициент прессуемости (индекс Карра) Carr's compressibility index	17 Средний / Average
Остаточная влажность, %   Residual moisture, %	7.80 ± 0.39
Фракционный состав, %   Fractional composition, %	
d ≤ 0.25	0.90 ± 0.05
0.25 < d < 0.5	18.90 ± 0.95
0.5 < d < 1	16.30 ± 0.82
d > 1	63.90 ± 3.20

Примечание. d – диаметр ячейки, мм.  
Note. d – a mesh size, mm.

**Таблица 4.** Технологические свойства гранулята  
**Table 4.** Technological properties of granulate

Показатель качества / Quality attribute	Результаты / Results
Остаточная влажность, %   Residual moisture, %	2.0 ± 0.1
Сыпучесть, с/100 г   Flowability, s/100 g	3.32 ± 0.17
Угол естественного откоса, градусы Angle of repose, degrees	36–45 Удовлетворительный / Satisfactory
Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>   Bulk density, g/cm <sup>3</sup>	
$\rho_0$	0.61 ± 0.03
$\rho_{1250}$	0.73 ± 0.04
Коэффициент прессуемости (индекс Карра) Carra's compressibility index	21.00
Фракционный состав, %   Fractional composition, %	
$d < 0.355$	4.21 ± 0.21
$0.355 < d < 0.500$	11.15 ± 0.76
$0.500 < d < 0.710$	24.60 ± 1.23
$0.710 < d < 1$	31.17 ± 1.56
$d > 1$	24.87 ± 1.24

Примечание. d – диаметр ячейки, мм.  
Note. d – a mesh size, mm.

100 мг, поэтому необходимо введение вспомогательных веществ.

При получении гранул используются технологические процессы и вспомогательные вещества, принятые в таблетировании. Введение в состав гранулируемой массы наполнителя необходимо для создания необходимой массы при небольшой дозировке АФС, для улучшения сыпучести и снижения гигроскопичности гранулируемого материала. На основании литературных данных [16] и ранее проведенных экспериментов было показано, что наибольшей сыпучестью обладает лактоза, из-за сферической формы частиц и достаточно высокого значения насыпной массы.

С целью улучшения сыпучести, повышения точности дозирования гранулята, а также обеспечения его надлежащих технологических свойств используют связующие вещества. Для веществ, образующих с водой и спиртом рассыпчатые плохо гранулируемые массы, или же в случаях, когда действующее вещество плохо растворимо как в воде, так и в спирте, применяют сахарный сироп или растворы поливинилпирролидона. Поэтому в качестве связующего вещества был выбран 5% раствор Plasdone K-29/32. Преимуществами использования этого раствора является легкая растворимость в воде и спирте, а также способность улучшать растворение и биодоступность лекарственных веществ за счет образования водорастворимых комплексов [17, 18].

Table 5 shows the composition of the granulate based on the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance dosed into enteric capsules.

The resulting granulate was dosed into enteric capsules. The analysis of enteric capsules was carried out according to the SP XIV quality attributes, the specification of the capsules is presented in Table 6.

Enteric capsules meet the requirements of SP XIV in terms of quality.

## CONCLUSION

In the course of the research, a synthesis method was proposed and the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance, which has pharmacological activity, was synthesized. Using the PASS online program, the pharmacological activity of the substance was determined. It has been established that N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide has a pronounced anti-inflammatory activity.

Excipients were selected taking into account the properties of the substance, the composition and technology of the granulate based on the synthesized substance N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide was developed, followed by dosing into enteric capsules, a draft specification for enteric capsules was proposed in accordance with the SP XIV requirements.

**Financing.** The study did not receive any financial support from outside organizations.

**Author's contribution.** All authors equally contributed to the research work.

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

**Таблица 5.** Состав содержимого на одну капсулу  
**Table 5.** Content composition per capsule

Группа вспомогательных веществ Group of excipients	Наименование компонента Component name	Содержание компонента Component content	
		%	мг / mg
Действующее вещество Active substance	Субстанция N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance	33	100
Наполнитель Filler	Лактозы моногидрат Lactose monohydrate	54	161
Дезинтегрант Disintegrant	Натрия крахмал гликолят Sodium starch glycolate	8	24
Связующее Binder	5% раствор Plasdone K-29/32 5% Plasdone K-29/32 solution	5	15

Примечание. Масса содержимого капсулы – 300 мг.  
 Note. The mass of the capsule contents is 300 mg.

**Таблица 6.** Проект спецификации показателей качества кишечнорастворимых капсул на основе субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксимидамида  
**Table 6.** Draft specification of quality attributes for enteric capsules based on the N-(naphthalene-2-yl)benzene carboximidamide substance

Показатель качества Quality attribute	Метод анализа Analysis method	Результат испытаний Test result
Описание Description	Органолептический Organoleptic	Капсулы белого цвета, продолговатой формы, содержащие гранулы круглой формы, коричневого цвета, с характерным запахом White oblong capsules, containing round brown granules, with a characteristic odor
Средняя масса содержимого, мг Average mass of content, mg	Гравиметрический Gravimetric 300.0 ± 22.5	294.0 ± 15.6
Допустимое отклонение, % Permissible deviation, %	±7.5	±5.2
Распадаемость, мин Disintegration, min	1-й этап: в растворе 0.1 М хлористоводородной кислоты должны оставаться неповрежденными от 60 до 120 мин Stage 1: in a solution of 0.1 M hydrochloric acid, they should remain intact for 60 to 120 min 2-й этап: в фосфатном буфере со значением pH 6.8 должны распасться в течение 60 мин Stage 2: in phosphate buffer with a pH value of 6.8, they should disintegrate within 60 min	1-й этап: капсулы не повреждены Stage 1: capsules are not damaged 2-й этап: капсулы распались в течение 50 мин Stage 2: capsules disintegrated within 50 min
Растворение, % Dissolution, %	1-я стадия (кислотная): в течение 2 ч не более 10% Stage 1 (acidic): within 2 hours, no more than 10% 2-я стадия (щелочная): в течение 45 мин не менее 75 % Stage 2 (alkaline): within 45 min at least 75%	Соответствует Compliant

Так как субстанция нерастворима в воде, то необходимо введение в состав гранулята дезинтегрантов. Дезинтегранты вводятся в гранулят для улучшения их распадаемости в желудочно-кишечном тракте, что необходимо для скорейшего высвобождения и последующего всасывания. Дезинтеграция происходит за счет быстрого поглощения жидкости с последующим быстрым набуханием, следовательно, гранулы будут быстро разрушаться [19]. В качестве дезинтегранта использовали крахмал гликолят натрия. В табл. 4 приведены технологические свойства полученного гранулята.

Полученный гранулят удовлетворяет требованиям ГФ XIV и является полупродуктом для твердой лекарственной формы.

В табл. 5 приведен состав гранулята на основе субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксамидамида, дозированного в кишечнорастворимые капсулы.

Полученный гранулят дозировали в кишечнорастворимые капсулы. Проведен анализ кишечнорастворимых капсул по показателям качества согласно ГФ XIV, спецификация капсул представлена в табл. 6.

Кишечнорастворимые капсулы соответствуют требованиям ГФ XIV по показателям качества.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследовательской работы предложен метод синтеза и синтезирована субстанция N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксамидамида, обладающая фармакологической активностью. С помощью онлайн-программы PASS определена фармакологическая активность субстанции. Установлено, что N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксамидамид обладает выраженной противовоспалительной активностью.

Подобраны вспомогательные вещества с учетом свойств субстанции, разработан состав и технология гранулята на основе синтезированной субстанции N-(нафталин-2-ил)бензолкарбоксамидамида, с последующим дозированием в кишечнорастворимые капсулы, предложен проект спецификации на кишечнорастворимые капсулы в соответствии с требованиями ГФ XIV.

**Финансирование.** Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

**Авторский вклад.** Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куваева Е.В., Федорова Е.В., Яковлев И.П., Ксенофонтова Г.В., Карасавиди А.О. Синтез и биологическая активность N-арилбензамидинов // Бутлеровские сообщения. 2014;39(8):76–81.
2. Куваева Е.В., Федорова Е.В., Ксенофонтова Г.В., Семакова Т.Л., Яковлев И.П. N-арилбензамидинов гидрохлориды. Синтез и строение // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017;(3):108–109.
3. Куваева Е.В., Федорова Е.В., Яковлев И.П., Кириллова Е.Н., Семакова Т.Л. Виртуальный скрининг в поиске биологической активности новых производных арилбензамидинов // Фармация. 2015;64(8):29–32.
4. Куваева Е.В., Колесник Д.А., Ксенофонтова Г.В., Семакова Т.Л., Яковлев И.П. Синтез и строение некоторых N-арилбензамидинов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017;4(21):140–143.
5. Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics / L.L. Brunton, R. Hilal-Dandan, B.C. Knollmann. 13th ed. McGraw Hill Educ., 2017. P. 31–55.
6. Weintraub W.S. Safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs // European Heart Journal. 2017;38(44):3293–3295. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx533.
7. Mahesh G., Anil Kumar K., Reddanna P. Overview on the discovery and development of anti-inflammatory

## REFERENCES

1. Kuvaeva E.V., Fedorova E.V., Yakovlev I.P., Ksenofontova G.V., Karasavidi A.O. Synthesis and biological activity of N-arylbenzamides. *Butlerov Communications*. 2014;39(8):76–81. (In Russ.)
2. Kuvaeva E.V., Fedorova E.V., Ksenofontova G.V., Semakova T.L., Yakovlev I.P. N-arylbenzamides hydrochlorides. Synthesis and structure. *Drug Development & Registration*. 2017;(3):108–109. (In Russ.)
3. Kuvaeva E.V., Fedorova E.V., Yakovlev I.P., Kirillova E.N., Semakova T.L. Virtual screening in search for the biological activity of novel derivatives of arylbenzamide. *Pharmacy*. 2015;64(8):29–32. (In Russ.)
4. Kuvaeva E.V., Kolesnik D.A., Ksenofontova G.V., Semakova T.L., Yakovlev I.P. Synthesis and structure of some N-arylbenzamides. *Drug Development & Registration*. 2017;4(21):140–143. (In Russ.)
5. Brunton L.L., Hilal-Dandan R., Knollmann B.C. (2017). *Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 13th ed. McGraw Hill Educ., pp. 31–55.
6. Weintraub W.S. Safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Heart Journal*. 2017;38(44):3293–3295. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx533.
7. Mahesh G., Anil Kumar K., Reddanna P. Overview on the discovery and development of anti-inflammatory drugs: should the focus be on synthesis or degradation of PGE2? *J. Inflam. Res.* 2021;14:253–263. DOI: 10.2147/JIR.S278514.

- drugs: should the focus be on synthesis or degradation of PGE<sub>2</sub>? // *J. Inflamm. Res.* 2021;14:253–263. DOI: 10.2147/JIR.S278514.
8. Fendric A.M., Pan D.E., Johnson G.E. OTC analgesics and drug interactions: clinical implications // *Osteopath. Med. Prim. Care.* 2008;7(2):2. DOI: 10.1186/1750-4732-2-2.
  9. Жураховская Д.В., Лоскутова Е.Е., Виноградова И.А. Маркетинговый анализ фармацевтического рынка нестероидных противовоспалительных препаратов на региональном уровне // *Современные проблемы науки и образования.* 2014;2:628.
  10. ФАРМИНДЕКС.РФ. Российский Фармацевтический Портал. URL: <https://www.pharmindex.ru> (дата обращения: 04.03.2022).
  11. Ушкалова Е.А., Зырянов С.К., Переверзев А.П. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств: учеб. пособие. М.: Мед. информ. агентство, 2018. 368 с.
  12. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств / под ред. Ю.Д. Игнатова, В.Г. Кукеса, В.И. Мазурова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 256 с.
  13. Wongrakpanich S., Wongrakpanich A., Melhado K., Rangaswami J. A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly // *Aging and Disease.* 2018;9(1):143–150. DOI: 10.14336/AD.2017.0306.
  14. PASS online. URL: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php> (дата обращения: 04.03.2022).
  15. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения: 04.03.2022).
  16. Новикова Е.К., Чачин Д.А., Каухова И.Е., Минина С.А. Разработка и стандартизация гранул в твердых желатиновых капсулах на основе композиции сухих экстрактов череды трехраздельной травы, золотарника канадского травы, рюшника обыкновенного травы // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2018;4(25):44–48.
  17. Егосина Ю.А., Поцелуева Л.А. Современные вспомогательные вещества в таблеточном производстве // *Успехи современного естествознания.* 2009;10:30–33.
  18. van der Merwe J., Steenekamp J., Steyn D., Hamman J. The role of functional excipients in solid oral dosage forms to overcome poor drug dissolution and bioavailability // *Pharmaceutics.* 2020;12(5):393. DOI: 10.3390/pharmaceutics12050393.
  19. Смахова И.Е., Вайнштейн В.А., Ладутько Ю.М., Дружининская О.В., Турецкова Н.Н. Дезинтегранты и их влияние на растворение субстанций разных классов по биофармацевтической классификационной системе // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2018;4(25):62–72.
  8. Fendric A.M., Pan D.E., Johnson G.E. OTC analgesics and drug interactions: clinical implications. *Osteopath. Med. Prim. Care.* 2008;7(2):2. DOI: 10.1186/1750-4732-2-2.
  9. Zhurakhovskaya D.V., Loskutova E.E., Vinogradova I.A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs regional market research. *Modern Problems of Science and Education.* 2014;2:628. (In Russ.)
  10. PHARMINDEX.RF. Russian Pharmaceutical Portal. URL: <https://www.pharmindex.ru> (accessed 04.03.2022).
  11. Ushkalova E.A., Zyryanov S.K., Pereverzev A.P. (2018). *Clinical Pharmacology of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Textbook.* 368 p. (In Russ.)
  12. Ignatov Yu.D., Kukes V.G., Mazurov V.I. (eds.) (2010). *Clinical Pharmacology of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs.* Moscow: GEOTAR-Media. 256 p. (In Russ.)
  13. Wongrakpanich S., Wongrakpanich A., Melhado K., Rangaswami J. A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and Disease.* 2018;9(1):143–150. DOI: 10.14336/AD.2017.0306.
  14. PASS online. URL: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php> (accessed 04.03.2022).
  15. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation, edition XIV.* URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (accessed 04.03.2022).
  16. Novikova E.K., Chachin D.A., Kaukhova I.E., Minina S.A. Development and standardization of granules in hard gelatin capsules based on the composition of dry extracts of *Bidens tripartita*, *Solidago canadensis* L. and *Agrimonia eupatoria* herbs. *Drug Development & Registration.* 2018;4(25):44–48. (In Russ.)
  17. Egoshina Yu.A., Potselueva L.A. Modern tablet excipients. *Successes of Modern Natural Science.* 2009;10:30–33. (In Russ.)
  18. Van der Merwe J., Steenekamp J., Steyn D., Hamman J. The role of functional excipients in solid oral dosage forms to overcome poor drug dissolution and bioavailability. *Pharmaceutics.* 2020;12(5):393. DOI: 10.3390/pharmaceutics12050393.
  19. Smekhova I.E., Vainshtein V.A., Ladutko Y.M., Druzhinskaya O.V., Tureckova N.N. Disintegrants and their influence on the dissolution of substances of biopharmaceutical classification system classes. *Drug Development & Registration.* 2018;4(25):62–72. (In Russ.)

## ABOUT THE AUTHORS

**Valeriya S. Mar'yushkina** – Junior Researcher, Center for Experimental Pharmacology, Assistant, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-2792-863.

**Olesya N. Abrosimova** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Industrial Technology of Medicines, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-0274-0139.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Марьюшкина Валерия Сергеевна** – младший научный сотрудник Центра экспериментальной фармакологии, ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава Рос-

сии, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-2792-863.

**Абросимова Олеся Николаевна** – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-0274-0139.

**Куваева Елена Владимировна** – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-1894-884X.

**Ладутько Юлия Михайловна** – канд. фармацевт. наук, декан фармацевтического факультета, доцент кафедры технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0001-5741-4050.

**Elena V. Kuvaeva** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-1894-884X.

**Yulia M. Ladutko** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Dean, Faculty of Pharmacy, Associate Professor, Department of Drug Technology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0001-5741-4050.



## Соматотипологические особенности вегетативной регуляции у девочек подросткового возраста г. Красноярска

Ю.С. Левченко, В.В. Никель, В.П. Ефремова

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В е д е н и е .** Снижение показателей физического здоровья детей и подростков в нашей стране обосновывает необходимость разработки программ, направленных на исправление данной ситуации, в частности – проведение исследований в области антропологии, изучение вегетативного баланса и влияния на него индивидуальных морфологических особенностей организма.

**Ц е л ь .** Выявление взаимосвязи вегетативного статуса и морфофункциональных показателей сердечно-сосудистой системы в зависимости от соматотипа у девочек подросткового возраста г. Красноярска.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В исследовании участвовали 158 девочек подросткового возраста (от 13 до 15 лет), проживающих в г. Красноярске. Проводилось антропометрическое обследование с дальнейшим определением соматотипа по индексу Риса – Айзенка. Оценивались некоторые показатели функционирования сердечно-сосудистой системы (систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД), число сердечных сокращений (ЧСС)) и тонус вегетативной нервной системы по индексу Кердо.

**Р е з у л ь т а т ы .** По результатам антропометрии участницы распределились следующим образом: астенический тип – 65 чел., нормостенический – 51 чел., гиперстенический – 42 чел. Выявлено статистически значимое увеличение САД и ДАД по мере повышения крепости телосложения во всех трех группах. У девочек астенического соматотипа отмечалось снижение значений САД в сочетании с более высокими показателями ЧСС. Доминанта симпатикотонии выявлена в группе представительниц астенического и гиперстенического типов конституции (65.2 и 52.8 % соответственно). Наибольшее количество девочек с процессами уравновешивания возбуждения и торможения автономной нервной системы было среди представительниц нормостенического (53.3 %) и, немного меньше, гиперстенического (39.6 %) типов, оба этих показателя были достоверно выше, чем у учениц с астеническим типом конституции (30.4 %). При этом у девочек с астеническим соматотипом реже преобладает парасимпатикотония (4.3 %) по сравнению с представительницами нормостенического (6.7 %) и гиперстенического (7.5 %) типов конституции ( $p < 0.05$ ).

**З а к л ю ч е н и е .** Полученные данные о различии показателей гемодинамики и вегетативного статуса у девочек 13–15 лет в зависимости от типа конституции необходимо учитывать при выборе спортивных занятий и проведении лечебно-профилактической работы в общеобразовательной школе.

**Ключевые слова:** соматотип, сердечно-сосудистая система, подростки, индекс Риса – Айзенка, вегетативный индекс Кердо.

**Образец цитирования:** Левченко Ю.С., Никель В.В., Ефремова В.П. Соматотипологические особенности вегетативной регуляции у девочек подросткового возраста г. Красноярска // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):42–50. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-42-50

## Somatotype features of autonomic regulation in adolescent girls in Krasnoyarsk

Yu.S. Levchenko, V.V. Nickel, V.P. Efremova

Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** The decrease in physical health parameters of children and adolescents in our country justifies the need to develop programs aimed at correcting this situation, in particular, conducting research in the field of anthropology, studying the autonomic balance and the influence of the body's individual morphological features on it.

Поступила в редакцию 25.10.2021  
Прошла рецензирование 13.12.2021  
Принята к публикации 14.01.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Левченко Юлия Сергеевна: ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.  
E-mail: 2924469@gmail.com

Received 25.10.2021  
Revised 13.12.2021  
Accepted 14.01.2022

*Corresponding author*  
Yulia S. Levchenko: Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 1, Partizana Zheleznyaka str., Krasnoyarsk, 660022, Russia.  
E-mail: 2924469@gmail.com

**A i m .** Identification of the relationship between autonomic status and morphofunctional parameters of the cardiovascular system depending on the somatotype in adolescent girls of the city of Krasnoyarsk.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The study involved 158 adolescent girls (from 13 to 15 years old) living in Krasnoyarsk. An anthropometric examination was carried out with the further determination of the somatotype according to the Rees-Eysenck body index. Some indicators of the cardiovascular system (systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP), heart rate (HR)) and the tone of the autonomic nervous system were assessed according to the Kerdo's index.

**R e s u l t s .** According to the results of anthropometry, the participants were distributed as follows: ectomorphy – 65 people, mesomorphy – 51 people, endomorphy – 42 people. A statistically significant increase in SBP and DBP was found as body strength increased in all three groups. In ectomorphic body type girls, there was a decrease in SBP values in combination with higher HR. The predominance of sympathicotonia was found in the ectomorphy and endomorphy groups (65.2 and 52.8%, respectively). The largest number of girls with the excitation-inhibition balance of the autonomic nervous system was among mesomorphy (53.3%) and slightly less among endomorphy girls (39.6%), both of these indicators were significantly higher than among the ectomorphic body type girls (30.4%). At the same time, in the latter, the parasympathicotonia predominates less often (4.3%) than in mesomorphy (6.7%) and endomorphy (7.5%) ( $p < 0.05$ ).

**C o n c l u s i o n .** The obtained data on the difference in hemodynamic parameters and autonomic status in girls aged 13–15, depending on the body type, must be considered when choosing sports activities and realization of medical and preventive work in a secondary school.

**Keywords:** somatotype, cardiovascular system, adolescents, Rees-Eysenck body index, Kerdo's autonomic index.

**Citation example:** Levchenko Yu.S., Nickel V.V., Efremova V.P. Somatotype features of autonomic regulation in adolescent girls in Krasnoyarsk. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):42–50. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-42-50

## ВВЕДЕНИЕ

Ухудшение показателей физического здоровья детей и подростков в нашей стране обосновывает необходимость разработки программ, направленных на исправление данной ситуации, в частности – проведение исследований в области антропологии. Это связано с тем, что каждый человек имеет свои индивидуальные морфологические особенности и их обязательно нужно учитывать при трактовке полученных результатов. Индивидуальный подход является единственно верным, потому что он в полной мере учитывает разнообразие морфологических особенностей в процессе формирования и развития человеческого организма [1–5]. При этом исследования влияния индивидуальных особенностей организма на его рост и развитие важны не только в сугубо научном плане, их результаты могут рассматриваться как ключ к пониманию направления дальнейшего возрастного развития и база для создания научно обоснованных прогнозов. Эти данные очень важны не только с точки зрения прикладной медицины, но и помогут правильно выбрать спортивное направление, провести отбор в рамках спортивной специализации, а также могут быть использованы педагогами в повседневной деятельности [3–10].

Изучение перестройки работы внутренних органов в период полового созревания имеет большое значение в связи с тем, что этот процесс

## INTRODUCTION

The deterioration of physical health indicators of children and adolescents in our country justifies the need to develop programs aimed at correcting this problem, in particular, carrying out anthropological research. Since each person has his individual morphological features, and they must be taken into account when interpreting the results obtained. An individual approach is the only correct one because it gives proper weight to the diversity of morphological features in the process of formation and development of the human body [1–5]. At the same time, studies of the influence of body individual characteristics on the growth and development are important not only in a purely scientific sense but their results can also be considered as a key to understanding the direction of further age-related development and the basis for creating scientific-based prognoses. These data are very important not only from the point of view of applied medicine, but also will help to choose the right field of sports and select within the framework of sports specialization, and can also be used by teachers in their daily activities [3–10].

It is important to study the alteration of the work of internal organs during puberty since this process is largely determined by individual morphological features. If functions of any body system appear to be on the verge of normal indicators, then this is a significant reason to follow up such a teenager, as all borderline conditions should be regarded as health risk factors.

во многом определяется индивидуальными морфологическими особенностями. Если функционирование каких-либо систем организма происходит на грани нормальных показателей, то это значимый повод взять такого подростка на дополнительный медицинский контроль, поскольку все пограничные состояния нужно расценивать как определенные факторы риска для здоровья. Не вызывает сомнения тот факт, что механизмы функционирования меняются с возрастом. С одной стороны, это необходимо, чтобы растущий организм лучше приспособился к условиям окружающей среды, с другой – гибкость таких механизмов свидетельствует об уровне приспособления и служит одним из показателей уровня общего здоровья. Учитывая, что в последние десятилетия социальная среда претерпела существенные изменения, было бы интересным с научной и прикладной точек зрения узнать, как это повлияло на изменение механизмов функционирования организма [1].

Одним из показателей уровня саморегуляции симпатической и парасимпатической систем является степень их вегетативного равновесия [11]. Если рассматривать сердечно-сосудистую систему (ССС), то именно вегетативный тонус служит показателем ее общего состояния. Любые отклонения уровня этого тонуса от нормальных значений являются маркерами нарушения адаптационных механизмов, что проявляется в заметном падении уровня работоспособности всего организма. Такого рода неустойчивость проявляется в превалировании тонуса парасимпатического либо симпатического отделов вегетативной нервной системы (ВНС). Это часто наблюдается у детей подросткового возраста, которые формально здоровы по всем признакам, но подошли к границе адаптационных способностей своего организма. Также многие из них склонны к развитию вегетососудистых расстройств [12].

По заключению некоторых исследователей, если наблюдается превалирование симпатических процессов в деятельности ВНС, то это приводит к перенапряжению в деятельности всех систем организма и его переходу в стрессовое состояние. Если данные явления носят кратковременный характер, то они не опасны, но длительный стресс ведет к серьезным органическим сдвигам, которые вначале обратимы, но потом становятся все менее обратимыми. Вместе с тем превалирование парасимпатических процессов благотворно влияет на насыщение организма кислородом в состоянии покоя, делает деятель-

There is no doubt that the mechanisms of functioning change with age. On the one hand, this is necessary for the growing body to better adapt to environmental conditions, on the other hand, the flexibility of such mechanisms indicates the level of adaptation and general health. Since in recent decades the social environment has undergone dramatical changes, it would be interesting from a scientific and applied point of view to find out how this affected the change in the mechanisms of the body's functioning [1].

One of the indicators of self-regulation of the sympathetic and parasympathetic nervous systems is the degree of their autonomic balance [11]. If we consider the cardiovascular system (CVS), then it is the autonomic tone that serves as an indicator of its overall condition. Any deviations of the level of this tone from the normal range are markers of a disorder of adaptive mechanisms, which manifests itself in a noticeable drop in the performance of the organism. Such kind of instability is manifested in the prevalence of the tone of the parasympathetic or sympathetic part of the autonomic nervous system (ANS). This is often observed in adolescents who are formally healthy in all respects but have come to the limit of the adaptive abilities of their bodies. Also, many of them are prone to the development of autonomic dysautonomia [12].

According to the conclusion of some researchers, the prevalence of sympathetic processes leads to an overstrain in the work of all body systems and body transition to a stressful state. If these phenomena are short-term, it is not dangerous. However, long-term stress results in crucial changes that are initially reversible but then become less and less reversible. At the same time, the prevalence of parasympathetic processes has a beneficial effect on the oxygen saturation of the body at rest and makes CVS activity more economical. In this state, the body receives additional reserves for adaptation [13, 14].

There is no doubt that the study of the ANS in healthy adolescents is necessary and is underway. But, in our opinion, more attention should be paid to the autonomic balance, especially the influence of the individual morphological characteristics on it.

## AIM OF THE RESEARCH

To reveal the relationship between the autonomic status and morphological and functional parameters of the CVS, depending on the somatotype in adolescent girls in the city of Krasnoyarsk.

## MATERIALS AND METHODS

We conducted a cross-sectional study of 158 girls aged 13–15 (adolescent age) living in Krasnoyarsk.

ность ССС более экономичной. В таком состоянии организм получает дополнительные резервы для адаптации [13, 14].

Не вызывает сомнения тот факт, что изучение ВНС у здоровых подростков необходимо, и оно ведется. Но, по нашему мнению, следует уделять больше внимания вегетативному балансу, особенно влиянию на него индивидуальных морфологических особенностей организма.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление взаимосвязи вегетативного статуса и морфофункциональных показателей ССС в зависимости от соматотипа у девочек подросткового возраста г. Красноярска.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено одномоментное поперечное исследование 158 девочек 13–15 лет (подростковый возраст), проживающих в г. Красноярске. Все обследуемые имели одинаковый уровень физической подготовки; подростков, дополнительно занимающихся в спортивных секциях, не включали в обследование. На проведение исследования получено разрешение локального этического комитета Красноярского государственного медицинского университета (№ 107/2021 от 16.06.2021). Были получены информированные добровольные согласия от детей и их родителей на участие в исследовании.

Антропометрическое обследование проводилось с использованием стандартного набора инструментов по методике В.В. Бунака. Измеряли следующие антропометрические показатели – длина тела и поперечный диаметр грудной клетки с дальнейшей их оценкой и определением соматотипа (астенический, нормостенический и гиперстенический) с помощью индекса Риса – Айзенка (ИРА) по формуле

$$\text{ИРА} = \frac{P \cdot 100}{D_{\text{гр. кл}} \cdot 6},$$

где P – рост, см;

$D_{\text{гр. кл}}$  – поперечный диаметр грудной клетки, см.

Было принято, что частота пульса равна частоте сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин) и определялась пальпаторно на лучевой артерии в течение 60 с. Измерение систолического артериального давления (САД, мм рт. ст.) и диастолического артериального давления (ДАД, мм рт. ст.) осуществляли по методу Н.С. Короткова согласно рекомендациям Ассоциации детских кардиологов России и Союза педиатров России (2016 г.).

All subjects had the same level of physical fitness; adolescents additionally involved in sports clubs were not included in the study. Permission for the study was obtained from the local ethical committee of the Krasnoyarsk State Medical University (No. 107/2021 dated 06/16/2021). Informed consent to participate in the study was obtained from adolescents and their parents.

The anthropometric examination was carried out according to the method of V.V. Bunak. We measured body height and the transverse diameter of the chest with their further assessment and determination of the somatotype (ectomorphy, mesomorphy and endomorphy) using the Rees-Eysenck index (REI) according to the formula

$$\text{REI} = \frac{P \cdot 100}{D_{\text{ch}} \cdot 6},$$

where H – the body height, cm;

$D_{\text{ch}}$  – the transverse diameter of the chest, cm.

It was assumed that the pulse rate is equal to the heart rate (HR, beats/min) and was determined by palpation on the radial artery for 60 s. Measurement of systolic blood pressure (SBP, mm Hg) and diastolic blood pressure (DBP, mm Hg) was carried out using to the method of N.S. Korotkov according to the guidelines of the Association of Pediatric Cardiologists of Russia and the Union of Pediatricians of Russia (2016).

The assessment of the tone of the autonomic nervous system was carried out by the Kerdo's index (KI), which was calculated by the formula

$$\text{KI} = \frac{1 - \text{DBP}}{\text{HR}} \cdot 100.$$

Normal range of Kerdo's index is from –10 to +10. With the predominance of the tone of the sympathetic nervous system, the KI has positive values, with the parasympathetic – negative ones.

The results were statistically processed using the STATISTICA 10.0 software package (StatSoft Inc., USA). Checking for the normality of the distribution of the measured variables was carried using the Shapiro-Wilk test. The results obtained using nonparametric processing methods are presented as a median (Me) and an interquartile range – the 25th and 75th percentiles. To compare the quantitative characteristics of three independent samples, the nonparametric Kruskal-Wallis test was used, followed by a pairwise comparison using the Mann-Whitney test. To study the dependencies between the distribution of autonomic types, an analysis of contingency tables was carried out using the  $\chi^2$  criterion. The significance level ( $p$ ) was taken to equal to 0.05.

Оценку тонуса вегетативной нервной системы проводили по вегетативному индексу Кердо (ВИК), который рассчитывали по формуле

$$\text{ВИК} = \frac{1 - \text{ДАД}}{\text{ЧСС}} \cdot 100.$$

В норме значения вегетативного индекса находятся в диапазоне от  $-10$  до  $+10$ . При преобладании тонуса симпатической нервной системы ВИК принимает положительные значения, парасимпатической – отрицательные.

Результаты были подвергнуты статистической обработке с применением пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверка на нормальность распределения измеренных переменных осуществлялась на основе теста Шапиро – Уилка. Результаты, полученные с помощью непараметрических методов обработки, представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха – 25-го и 75-го процентилей. Для сравнения количественных признаков трех независимых выборок использовался непараметрический критерий Краскела – Уоллиса с последующим попарным сравнением с помощью критерия Манна – Уитни. Для изучения зависимостей между распределением вегетативных типов был проведен анализ таблиц сопряженности с использованием критерия  $\chi^2$ . Критический уровень значимости ( $p$ ) принимался равным 0.05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного антропометрического исследования с определением индекса Риса – Айзенка 158 обследуемых девочек были разделены на три группы. В первую группу вошли 65 учениц с астеническим типом телосложения, во вторую – 51 школьница с нормостеническим типом, в третью группу – 42 девочки с гиперстеническим типом.

Исследование параметров сердечно-сосудистой системы показало статистически значимое увеличение значений САД и ДАД по мере повышения крепости телосложения во всех трех группах (табл. 1). При этом у 26.2 % девочек в группе с гиперстеническим типом телосложения уровень САД находился на верхней границе нормы (в пределах 90–94-го перцентиля для данного пола, возраста и роста), что позволяет ожидать в дальнейшем формирование предгипертензивного состояния у представительниц данного соматотипа [10].

Мы также провели сравнительный анализ изменений ЧСС. Этот параметр является одним

## RESULTS AND DISCUSSION

As a result of the anthropometric study with the determination of the Rees-Eysenck index, 158 girls were subdivided into three groups. The first group included 65 ectomorphy girls, the second group included 51 mesomorphy girls, and the third group included 42 endomorphy girls.

The study of the parameters of the cardiovascular system showed a statistically significant increase in the values of SBP and DBP as the body strength increased in all three groups (Table 1). At the same time, in 26.2% of endomorphy girls, the SBP level was at the upper limit of the normal range (within the 90–94th percentile for a given sex, age, and body height), which may lead to a prehypertensive state in representatives of this somatotype in the future [10].

We also conducted a comparative analysis of HR changes. This parameter is one of the most important parameters of hemodynamics and indicates the functional state of the body. There is a linear relationship between HR and oxygen consumption. An increase of HR leads to an impairment of blood circulation in the organs, and hypoxia due to a decrease in blood supply to the ventricles and in cardiac output. In contrast, a decrease in HR in children is one of the factors for increasing the reserve capacity of the CVS. An increase in the time of the diastolic pause between systoles makes the activity of the cardiovascular system more economical [15].

It should be noted that ectomorphic body type girls have lower SBP along with increased HR values (see Table 1). This state of the heart work indicates the least economical mode and limited adaptation capacity [2].

After that, we assessed the autonomic tone in all groups of participants. To do this, we determined the KI, its values show which part of the autonomic nervous system regulates the activity of all organs to maintain homeostasis and the effective operation of compensatory adaptive mechanisms. In the group of ectomorphy and endomorphy girls, sympathetic part of ANS predominates (65.2 and 52.8%, respectively). The largest number of girls with the balanced excitation and inhibition processes of the autonomic nervous system was among the mesomorphy girls (53.3%) and, slightly less, endomorphy (39.6%) girls, at that both indicators were significantly higher compared with the ectomorphy students (30.4%). At the same time, in ectomorphy girls, parasympathicotonia (4.3%) predominates less often, compared with mesomorphy (6.7%) and endomorphy (7.5%) girls (Fig. 1) ( $p < 0.05$ ).

**Таблица 1.** Показатели вариабельности гемодинамики у девочек подросткового возраста с различным типом конституции**Table 1.** Indicators of hemodynamic variability in adolescent girls with different types of constitution

Показатель Indicator	Тип конституции Type of constitution			Уровень значимости различий между группами Significance level of differences between groups (p)		
	астенический ectomorphy (1)	нормостениче- ский mesomorphy (2)	гиперстениче- ский endomorphu (3)	1–2	1–3	2–3
САД, мм рт. ст. SBP, mm Hg	112.3 [109.3; 113.9]	114.5 [110.6; 117.5]	116.2 [111.7; 122.3]	>0.05	<0.05	<0.05
ДАД, мм рт. ст. DBP, mm Hg	70.1 [69.6; 73.2]	72.3 [70.1; 74.5]	73.5 [66.9; 84.2]	<0.05	<0.05	>0.05
ЧСС, уд./мин HR, beat/min	83.4 [76.4; 86.9]	79.2 [74.3; 83.1]	84.1 [77.1; 86.5]	<0.05	>0.05	<0.05

из наиболее важных показателей гемодинамики и отражает функциональное состояние организма. Существует линейная зависимость между ЧСС и величиной потребления кислорода. Увеличение ЧСС приводит к ухудшению кровообращения в органах и развитию гипоксии вследствие снижения кровенаполнения желудочков и уменьшению сердечного выброса. В противоположность этому уменьшение ЧСС у детей является одним из факторов повышения резервных возможностей ССС. Увеличение времени диастолической паузы между систолами делает деятельность ССС более экономной [15].

Необходимо отметить, что у девочек астенического соматотипа отмечаются более низкие значения САД при повышенных величинах ЧСС (см. табл. 1). Такое состояние работы сердца свидетельствует о наименее экономном режиме и ограничении возможностей адаптации [2].

После этого мы провели оценку вегетативного тонуса по всем группам участниц. Для этого мы определяли ВИК, его значения показывают, посредством какого отдела автономной нервной системы регулируется деятельность всех органов для поддержания гомеостаза и эффективной работы компенсаторно-приспособительных механизмов. В группе девочек астенического и гиперстенического типов конституции выявлено преобладание симпатических влияний в деятельности вегетативной нервной системы (65.2 и 52.8 % соответственно). Наибольшее количество девочек с процессами уравнивания возбуждения и торможения автономной нервной системы было среди представительниц нормостенического (53.3 %) и, немного меньше, гиперстенического (39.6 %) типов, оба этих показателя

Since with the predominance of the sympathetic influence of the nervous system, the body's need for oxygen increases, during regular medical checkup, as well as in sports lessons, it is necessary to pay special attention to ectomorphic body type schoolgirls, taking into account the decrease in SBP, increase in HR, predominance of sympathetic and decrease in parasympathetic influence of the autonomic nervous system.

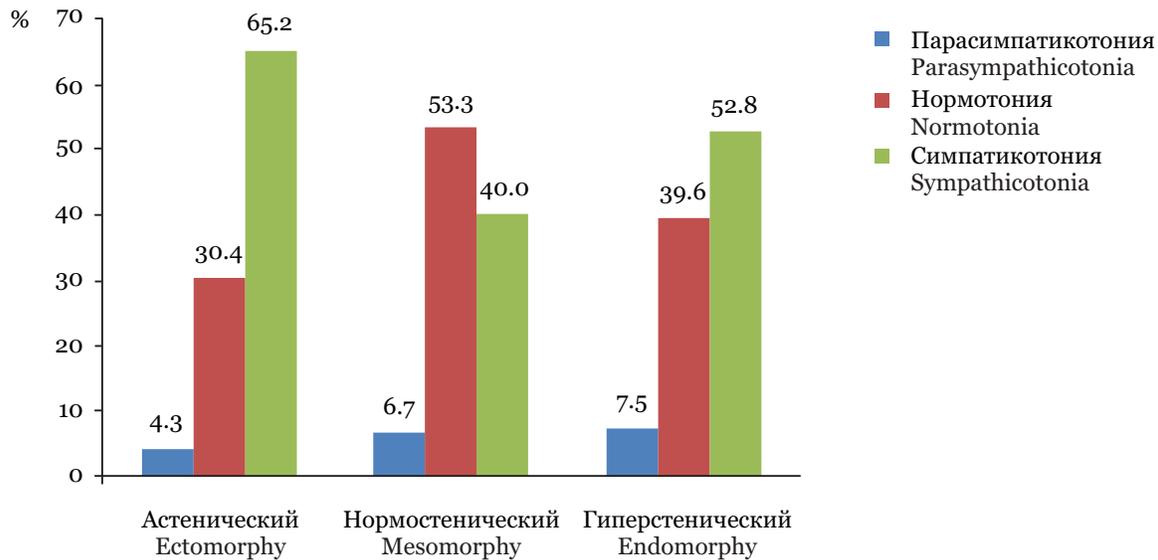
## CONCLUSION

The study showed differences in hemodynamic parameters and autonomic status in girls aged 13–15 depending on the type of constitution.

If adolescent girls have high HR and high normal blood pressure values, which are more common in endomorphy students, preventive activities are necessary to normalize the imbalance of the autonomic nervous system, as well as additional regular medical follow-up in this group of students. This is especially important in the presence of other risk factors for the development of arterial hypertension.

Changes in hemodynamics and autonomic status in adolescent students of different body types must be taken into account when choosing sports activities and conducting medical and preventive work at school. Special attention should be paid to ectomorphy girls since some of them have decreased SBP, increased HR, a predominance of sympathetic and decrease in parasympathetic innervation of the autonomic nervous system.

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



**Рис. 1.** Взаимосвязь вегетативного статуса у девочек подросткового возраста с различным типом конституции  
**Fig. 1.** The relationship of autonomic status with different types of constitution in adolescent girls

достоверно выше по сравнению с ученицами астенического типа конституции (30.4 %). При этом у девочек с астеническим соматотипом преобладает парасимпатикотония (4.3 %), по сравнению с представительницами нормостенического (6.7 %) и гиперстенического (7.5 %) типов конституции (рис. 1) ( $p < 0.05$ ).

Поскольку при преобладании симпатического влияния нервной системы увеличивается потребность организма в кислороде, при проведении диспансерного наблюдения, а также на уроках физической культуры необходимо уделять особое внимание школьницам с астеническим типом конституции, учитывая выявленное у них снижение САД, повышение ЧСС, преобладание симпатической и снижение парасимпатической иннервации вегетативной нервной системы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало различия показателей гемодинамики и вегетативного статуса у девочек 13–15 лет в зависимости от типа конституции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковязина О.Л., Елифанов А.В., Лепунова О.Н. Оценка уровня физического развития и функционального состояния организма школьников 11–13 лет сельской местности // Вестн. Нижневартоск. гос. ун-та. 2017;1:79–85. eLIBRARY ID: 28961439.
2. Филатова О.В., Богданова Т.А., Томилова И.Н. Особенности вариабельности ритма сердца, состава

При выявлении у девочек подросткового возраста высоких значений ЧСС, высокого нормального артериального давления, которые чаще встречаются у учениц с гиперстеническим типом, необходима профилактическая деятельность по нормализации дисбаланса вегетативной нервной системы, а также дополнительное диспансерное наблюдение в данной группе учащихся. Особенно это важно при наличии других факторов риска развития артериальной гипертензии.

Изменения показателей гемодинамики и вегетативного статуса у учащихся подросткового возраста разных типов телосложения необходимо учитывать при выборе спортивных занятий и проведении лечебно-профилактической работы в школе. Особое внимание необходимо уделять девочкам с астеническим соматотипом, учитывая выявление у части из них снижения САД, повышения ЧСС, преобладания симпатической и снижения парасимпатической иннервации вегетативной нервной системы.

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

## REFERENCES

1. Kovazina O.L., Elifanov A.V., Lepunova O.N. Assessment of level of physical development and functional state of the organism of schoolchildren 11–13 years the countryside. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*. 2017;1:79–85. eLIBRARY ID: 28961439. (In Russ.)
2. Filatova O.V., Bogdanova T.A., Tomilova I.N. Features of heart rhythm variability, body composition and

- тела и параметров биоимпедансометрии у девочек в зависимости от темпов биологического созревания // Экология человека. 2020;2:24–32. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-2-24-32.
3. Козлова А.П., Суботьялов М.А. Морфофункциональные особенности мальчиков в зависимости от соматотипа // Уч. зап. Крымск. федерального ун-та им. В.И. Вернадского. Биология. Химия. 2021;7(73),1:75–82.
  4. Кучиева М.Б., Чаплыгина Е.В. Жировой компонент массы тела у здоровых юношей и девушек 16–20 лет по данным биоимпедансометрии и антропометрии // Валеология. 2016; 3: 5–12.
  5. Никитюк Д.Б., Николенко В.Н., Хайруллин Р.М. и др. Антропометрический метод и клиническая медицина // Журн. анатомии и гистопатологии. 2013;2:10–15.
  6. Калмыков С.В., Сагалеев А.С., Цыбиков А.С. Индивидуально-типологические особенности спортсменов Бурятии // Теория и практика физической культуры. 2016; 4:59–61.
  7. Almeida A.H.S., Santos S.A.G., Castro P.J.P. Somatotype analysis of physically active individuals // J. Sports Med. Phys. Fitness. 2013;53:268–273.
  8. Ibáñez-Zamacona M.E., Poveda A., Rebato E. Contribution of obesity associated genetic variants to anthropometric somatotype components // Anthropol. Anz. 2019;76(2):101–111. DOI: 10.1127/anthranz/2019/0945.
  9. Alvero-Cruz J.R., Mathias V.P., García-Romero J.C. Somatotype components as useful predictors of disordered eating attitudes in young female ballet dance students // J. Clin. Med. 2020;9(7):20–24. DOI: 10.3390/jcm9072024.
  10. Pereira S., Katzmarzyk P.T., Gomes T.N. et al. Multilevel modelling of somatotype components: the Portuguese sibling study on growth, fitness, lifestyle and health // Ann. Hum. Biol. 2017;44(4):316–324. DOI: 10.1080/03014460.2016.1243727.
  11. Аверьянова И.В., Максимов А.Л. Показатели сердечно-сосудистой системы и кардиоритма у юношей г. Магадана с различными типами конституции // Вестн. Мордовск. ун-та. 2017;3:397–409. DOI: 10.15507/0236-2910.027.201703.397-409.
  12. Мужиченко М.В., Надежкина Е.Ю., Новикова Е.И., Щербакова Т.Г. Исследование особенностей внешнего дыхания и вариабельности сердечного ритма у студентов с различными типами конституции // Вестн. Волгоградск. гос. мед. ун-та. 2019;1:37–40. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-1(69)-37-40.
  13. Смирнова А.В., Корягина О.А. Адаптивные реакции сердечно-сосудистой системы к учебной нагрузке у студентов с различными типами конституции // Междунар. студенческий науч. вестн. 2020;1:9.
  14. Антонет К.В., Чурукова Н.М. Влияние учебной нагрузки на некоторые параметры гемодинамики и эмоциональное состояние студентов // Междунар. студенческий науч. вестн. 2017;2:91.
  15. Блинков С.Н., Левушкин С.П., Бувашкин О.Е. Возрастная динамика отдельных показателей центральной гемодинамики сельских школьников 7–17 лет Ульяновской области с учетом особенностей телосложения // Уч. зап. ун-та им. П.Ф. Лесгафта. 2016;131(1);22–28.
  - parameters of bioimpedancesometry) in girls depending on the rates of biological maturation. *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*. 2020;2:24–32. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-2-24-32. (In Russ.)
  3. Kozlova A.P., Subotyalov M.A. Morphofunctional features of boys depending on the somatotype. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2021;7(73),1:75–82. (In Russ.)
  4. Kuchieva M.B., Chaplygina E.V. The fat component of body mass in healthy boys and girls 16–20 years of age according to bioimpedancesometry and anthropometry. *Journal of Health and Life Sciences*. 2016;3:5–12. (In Russ.)
  5. Nikityuk D.B., Nikolenko V.N., Khayrullin R.M. et al. The anthropometric method and clinical medicine. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2013;2:10–15. (In Russ.)
  6. Kalmykov S.V., Sagaleyev A.S., Tsybikov A.S. Individual typology of athletes from Buryatia. *Theoriya i Praktika Fizicheskoy Kultury*. 2016;4:59–61. (In Russ.)
  7. Almeida A.H.S., Santos S.A.G., Castro P.J.P. Somatotype analysis of physically active individuals. *J. Sports Med. Phys. Fitness*. 2013;53:268–273.
  8. Ibáñez-Zamacona M.E., Poveda A., Rebato E. Contribution of obesity associated genetic variants to anthropometric somatotype components. *Anthropol. Anz*. 2019;76(2):101–111. DOI: 10.1127/anthranz/2019/0945.
  9. Alvero-Cruz J.R., Mathias V.P., García-Romero J.C. Somatotype components as useful predictors of disordered eating attitudes in young female ballet dance students. *J. Clin. Med*. 2020;9(7):20–24. DOI: 10.3390/jcm9072024.
  10. Pereira S., Katzmarzyk P.T., Gomes T.N. Multilevel modeling of somatotype components: the Portuguese sibling study on growth, fitness, lifestyle and health. *Ann. Hum. Biol*. 2017;44(4):316–324. DOI: 10.1080/03014460.2016.1243727.
  11. Averyanova I.V., Maksimov A.L. Cardiovascular system indexes and heart rate in Magadan young male residents with different body constitution types. *Mordovia University Bulletin*. 2017;3:397–409. DOI: 10.15507/0236-2910.027.201703.397-409. (In Russ.)
  12. Muzhichenko M.V., Nadezhkina E.Yu., Novikova E.I., Shcherbakova T.G. Research of peculiarities of external breath and variability of heart rhythm in students with various types of the constitution. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2019;1:37–40. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-1(69)-37-40. (In Russ.)
  13. Smirnova A.V., Koryagina O.A. Adaptive reactions of the cardiovascular system to the academic setting in students with different types of the constitution. *International Student Scientific Herald*. 2020;1:9. (In Russ.)
  14. Antonets K.V., Churukova N.M. The influence of the workload on some parameters of haemodynamics and emotional status of students. *International Student Scientific Herald*. 2017;2:91. (In Russ.)
  15. Blinkov S.N., Levushkin S.P., Buvashkin O.E. Age dynamics of separate indicators of the central haemodynamics of rural schoolgirls of 7–17 years of the Ulyanovsk region taking into account the features of constitution. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*. 2016;131(1);22–28. (In Russ.)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Левченко Юлия Сергеевна** – канд. мед. наук, ассистент кафедры офтальмологии с курсом последипломного образования им. проф. М.А. Дмитриева ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия.

**Никель Виктория Викторовна** – д-р мед. наук, доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия. ORCID: 0000-0003-4923-9592.

**Ефремова Влада Петровна** – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия. ORCID: 0000-0003-4590-6116.

## ABOUT THE AUTHORS

**Yulia S. Levchenko** – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Ophthalmology with the Course of Postgraduate Education named after. prof. M.A. Dmitrieva, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia.

**Viktoriya V. Nickel** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Human Anatomy, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4923-9592.

**Vlada P. Efremova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Human Anatomy, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4590-6116.



## Генетические аспекты неинфекционного эндокардита у пациентов с антифосфолипидным синдромом

Ю.С. Бахарева<sup>1</sup>, В.Н. Максимов<sup>1, 2</sup>, Н.Н. Чапаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

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

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Антифосфолипидный синдром (АФС) представляет собой аутоиммунную тромбофилию, при которой у пациентов с клиническими критериями рецидивирующих артериальных и венозных тромбозов и/или патологией беременности обнаруживают положительные результаты лабораторных исследований на наличие антифосфолипидных антител (АФЛ). Генетическая предрасположенность к неинфекционному эндокардиту (НЭ) у пациентов с АФС остается сложной и малоизученной проблемой.

**Цель.** Выявление возможных ассоциативных связей между полиморфизмами генов-кандидатов и эндокардитом неинфекционного генеза у пациентов с АФС, а также развитием возможных тромбоэмболических осложнений.

**Материалы и методы.** В исследовании участвовали 35 пациентов в возрасте  $43.0 \pm 13.9$  года. При этом основными признаками, характеризующими НЭ при АФС, являлись отрицательная гемокультура, нормотермия и отсутствие явных эхоскопических признаков инфицирования (утолщение и уплотнение створок клапанов, минимальная регургитация). Изучены полиморфизмы 18 генов в качестве возможных молекулярно-генетических маркеров развития и/или протекции НЭ у 35 пациентов с АФС: первичный диагностирован у 15 пациентов (18.5 %), вторичный – у 20 пациентов с аутоиммунной патологией (24.7 %).

**Результаты.** Впервые для полиморфизмов rs6025 (1691 G>A) гена *F5*, 4a/4b гена *NOS3*, rs1800795 гена *IL6*, rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR* выявлена достоверная ассоциативная связь с развитием вегетаций на клапанном аппарате сердца при АФС. Для 2 полиморфизмов – rs1126643 (807 C>T) гена *ITGA2* и rs1799889 (-675 5G>4G) гена *PAI1* (*SERPINE1*) выявлена ассоциация с тромбоэмболическими осложнениями (острое нарушение мозгового кровообращения) при НЭ.

**Заключение.** Целесообразно проводить генотипирование некоторых однонуклеотидных полиморфизмов у пациентов с АФС.

**Ключевые слова:** антифосфолипидный синдром, гены-кандидаты, однонуклеотидный полиморфизм, гемостаз, тромбоэмболические осложнения.

**Образец цитирования:** Бахарева Ю.С., Максимов В.Н., Чапаева Н.Н. Генетические аспекты неинфекционного эндокардита у пациентов с антифосфолипидным синдромом // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):51–61. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-51-61

## Genetic aspects of non-infectious endocarditis in patients with antiphospholipid syndrome

Yu.S. Bakhareva<sup>1</sup>, V.N. Maksimov<sup>1, 2</sup>, N.N. Chapaeva<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

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

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune thrombophilia in which patients with clinical criteria for recurrent arterial and venous thrombosis and/or pregnancy failure show positive laboratory results for the

Поступила в редакцию 28.10.2021  
Прошла рецензирование 28.12.2021  
Принята к публикации 01.02.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Бахарева Юлия Сергеевна: НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН». 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1.  
E-mail: 8578511@inbox.ru

Received 28.10.2021  
Revised 28.12.2021  
Accepted 01.02.2022

*Corresponding author*  
Yulia S. Bakhareva: Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, 175/1, B. Bogatkova str., Novosibirsk, 630089, Russia.  
E-mail: 8578511@inbox.ru

presence of antiphospholipid antibodies (aPL). The genetic predisposition to non-infectious endocarditis (NIE) in patients with APS remains a complex and poorly understood problem.

**A i m .** Revealing of possible associations between polymorphisms of candidate genes and non-infectious endocarditis in patients with APS, as well as the development of possible thromboembolic complications.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The study involved 35 patients aged  $43.0 \pm 13.9$  years. At the same time, the main signs characterizing NIE in APS were negative blood culture, normothermia, and the absence of obvious echoscopic signs of infection (thickening and induration calcification of the valve leaflets, minimal regurgitation). Polymorphisms of 18 genes were studied as possible molecular genetic markers for the development and/or protection of NIE in 35 patients with APS: the primary disorder was diagnosed in 15 patients (18.5%), secondary – in 20 patients with autoimmune pathology (24.7%).

**R e s u l t s .** For the first time, for polymorphisms rs6025 (1691 G>A) of the *F5* gene, 4a/4b of the *NOS3* gene, rs1800795 of the *IL6* gene, rs1805087 (2756 A>G) of the *MTR* gene, a significant association with the development of vegetations on the valvular heart apparatus in APS was revealed. Two polymorphisms, rs1126643 (807 C>T) of the *ITGA2* gene and rs1799889 (-675 5G>4G) of the *PAI1* gene (*SERPINE1*), were found to be associated with thromboembolic complications (acute cerebrovascular accident) in NIE.

**C o n c l u s i o n .** It is reasonable to perform genotyping of some single nucleotide polymorphisms in patients with APS.

**Keywords:** antiphospholipid syndrome, candidate genes, single nucleotide polymorphism, hemostasis, thromboembolic complications.

**Citation example:** Bakhareva Yu.S., Maksimov V.N., Chapaeva N.N. Genetic aspects of non-infectious endocarditis in patients with antiphospholipid syndrome. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):51–61. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-51-61

## ВВЕДЕНИЕ

Антифосфолипидный синдром (АФС), впервые изученный и описанный в начале 1980-х годов, представляет собой аутоиммунную тромбофилию, при которой у пациентов с клиническими критериями рецидивирующих артериальных и венозных тромбозов и/или патологией беременности обнаруживают положительные результаты лабораторных исследований на наличие антифосфолипидных антител (АФЛ) [1]. Для верификации диагноза АФС достаточно наличие одного клинического критерия: тромбоз сосудов или акушерская патология и одного лабораторного: обнаружение волчаночного антикоагулянта (ВА), антител к кардиолипину (АКЛ) и/или антител к бета-2-гликопротеину I ( $\beta$ 2-ГПИ) [2]. Клинические проявления, не входящие в общепризнанные классификационные критерии, включают в себя: неврологические (хорея, миелит и мигрень) и гематологические (тромбоцитопения и гемолитическая анемия) симптомы, ретикулярное ливедо, нефропатию и поражение клапанов сердца – неинфекционный эндокардит (НЭ) [3]. Первоначально АФС был описан у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) – выявляется примерно у 7–15 % пациентов и ассоциируется с более тяжелым течением, но также может возникать и у пациентов без аутоиммунных заболеваний – первичный АФС [4].

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе тромбоза и акушерской патологии при

## INTRODUCTION

Antiphospholipid syndrome (APS), first studied and described in the early 1980s, is an autoimmune thrombophilia in which patients with clinical criteria for recurrent arterial and venous thrombosis and/or pregnancy failure show positive laboratory results for the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) [1]. To verify the diagnosis of APS, it is sufficient to have one clinical criterion – vascular thrombosis or obstetric pathology, and one laboratory criterion – detection of lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin antibodies (aCL) and/or anti-beta-2-glycoprotein I ( $\beta$ 2-GPI) antibodies [2]. Clinical manifestations that do not correspond to the generally accepted classification criteria include: neurological (chorea, myelitis and migraine) and hematological (thrombocytopenia and hemolytic anemia) symptoms, livedo reticularis, nephropathy and heart valve disease – non-infectious endocarditis (NIE) [3]. Initially, APS was described in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) – it is detected in approximately 7–15% of cases and is associated with a more severe course, but it can also occur in patients without autoimmune diseases – primary APS [4].

The pathophysiological mechanisms of thrombosis and obstetric pathology in APS are due to the inhibition of factors of the hemostasis and fibrinolysis system, as well as the activation of the complement system [5]. Complement system is a complex of enzymes and regulatory proteins of the innate immune system that plays a key role in the develop-

АФС, обусловлены ингибированием факторов системы гемостаза и фибринолиза, а также активацией системы комплемента [5]. Комплемент – это система ферментов и регуляторных белков врожденной иммунной системы, которая играет ключевую роль в развитии воспалительной реакции. Пути комплемента и коагуляции между собой тесно связаны, комплемент может активироваться у пациентов с АФС и действовать как кофактор в патогенезе тромбозных осложнений [6]. Хотя механизмы активации комплемента при АФС полностью не изучены, предполагают, что активация комплемента антителами к фосфолипидам приводит к расщеплению C5 с образованием активированных факторов C5a и C5b; C5a способствует выработке тканевого фактора нейтрофилами, что, в свою очередь, обуславливает прокоагулянтную способность и угнетает фибринолиз [7, 8].

Генетическая предрасположенность к НЭ у пациентов с АФС остается сложной и малоизученной проблемой. Сообщается об ассоциативных связях DR или DQ (группы антигенов гистосовместимости) с развитием АФС и генетических рисках продукции АКЛ в случае полиморфизма  $\beta$ 2-ГПИ с заменой валина (247) на лейцин [9]. Имеется небольшой объем данных относительно ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов в генах гемостаза и фолатного цикла с развитием эндокардитов при АФС [10, 11].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление возможных ассоциативных связей между полиморфизмами 18 генов-кандидатов и эндокардитом неинфекционного генеза у пациентов с АФС, а также развитием возможных тромбозных осложнений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 35 пациентов (32 женщины, 3 мужчины) в возрасте  $43.0 \pm 13.9$  года с НЭ. При этом основными признаками, характеризующими НЭ при АФС, являлись отрицательная гемокультура, нормотермия и отсутствие явных эхоскопических признаков инфицирования (утолщение и уплотнение створок клапанов, минимальная регургитация). Первичный АФС диагностирован у 15 пациентов (18.5 %), вторичный – у 20 пациентов с аутоиммунной патологией (24.7 %). Критерии включения в исследование: наличие эндокардита при АФС. Все пациенты были осмотрены и обследованы на предмет аутоиммунной патологии (АФС, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, склеродер-

мент of the inflammatory response. Complement and coagulation pathways are closely related to each other; complement can be activated in patients with APS and act as a cofactor in the pathogenesis of thromboembolic complications [6]. Although the mechanisms of complement activation in APS are not fully understood, it is hypothesized that complement activation by antiphospholipid antibodies results in C5 cleavage to form C5a and C5b activated factors; C5a then promotes the production of tissue factor by neutrophils, which, in turn, determines the procoagulant activity and inhibits fibrinolysis [7, 8].

The genetic predisposition to NIE in APS patients remains a complex and poorly understood issue. Associations of DR or DQ (groups of histocompatibility antigens) with the development of APS and genetic risks of aCL production in  $\beta$ 2-GPI polymorphism with the substitution of valine (247) for leucine have been reported [9]. There is little data on the association of single nucleotide polymorphisms in the genes of hemostasis and the folate cycle with the development of endocarditis in APS [10, 11].

## AIM OF THE RESEARCH

Revealing of possible associations between polymorphisms of 18 candidate genes and non-infectious endocarditis in patients with APS, as well as the development of possible thromboembolic complications.

## MATERIALS AND METHODS

The study included 35 patients (32 women, 3 men) aged  $43.0 \pm 13.9$  years with NIE. At the same time, the main signs characterizing NIE in APS were negative blood culture, normothermia, and the absence of obvious echoscopic signs of infection (thickening and induration of valve leaflets, minimal regurgitation). Primary APS was diagnosed in 15 patients (18.5%), secondary – in 20 patients with autoimmune pathology (24.7%). Criteria for inclusion in the study: the presence of endocarditis in APS. All patients were examined for autoimmune pathology (APS, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, scleroderma, mixed connective tissue disease). Rheumatological diseases were diagnosed in accordance with modern international APS criteria [1, 4]. The presence of APS signs in patients without an autoimmune disease, neoplastic or infectious origin of the disease served as the basis for determining the primary APS (there were no reliable clinical and serological markers of the previously listed diseases). The diagnosis of NIE was made after the exclusion of infectious origin of

мия, смешанное заболевание соединительной ткани). Ревматологические заболевания диагностировали в соответствии с современными международными критериями АФС [1, 4]. Наличие признаков АФС у пациентов без аутоиммунного заболевания, неопластического или инфекционного генеза заболевания служило основанием для определения первичного АФС (отсутствовали достоверные клинические и серологические маркеры раннее перечисленных заболеваний). Диагноз НЭ был поставлен после исключения инфекционного генеза эндокардита согласно критериям Duke [12]: отрицательные данные бактериологических исследований, нормотермия и отсутствие эхоскопических признаков инфицирования клапанов. При НЭ выявлялись лишь утолщение и уплотнение створок клапанов, незначительная регургитация, кроме того, не наблюдалось прогрессирования порока сердца и других осложнений инфекционного эндокардита, таких как отрывы, разрывы, перфорации и абсцедирование створок клапанов. Критерии исключения: беременность и недавно перенесенные острые состояния (травма, полихимиотерапия, хирургическое вмешательство). Информированное согласие было подписано всеми пациентами в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». В контрольную группу вошли 225 условно здоровых людей аналогичного возраста.

В работе использовались инструментальные методы исследования: рентгенография органов грудной клетки, эхокардиография, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, почек. Данные ангиопульмографии, мультиспиральной компьютерной томографии головного мозга были получены с использованием томографа Siemens Somatom Emotion 16 (Siemens, Германия).

Тромбоз глубоких вен, артериальные тромбозы были диагностированы с помощью ультразвукового исследования сосудов. Ультразвуковое исследование сердца и сосудов проводили на аппарате Sonoline G60 S (Siemens, США), в одномерном (М-тип) и двумерном (В-тип) режимах, с помощью импульсной и непрерывно-волновой доплерографии.

Геномную ДНК выделяли из 6–10 мл венозной крови, с помощью фенол-хлороформного метода. Полиморфизмы генов системы гемостаза и фолатного цикла тестировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на тест-системах производства

endocarditis according to the Duke criteria [12]: negative bacteriological data, normothermia, and the absence of echoscopic signs of valve infection. In NIE, only thickening and induration of the valve leaflets, slight regurgitation were detected, in addition, there was no progression of heart disease and other complications of infective endocarditis, such as detachment, ruptures, perforations of the valve leaflets, and local abscess formation. Exclusion criteria: pregnancy and recent acute conditions (trauma, polychemotherapy, surgery). Informed consent was signed by all patients in accordance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association: Ethical Principles for Medical Research Involving Humans. The control group included 225 apparently healthy people of the same age.

Instrumental examination methods were used in the study: chest radiography, echocardiography, abdominal and kidneys ultrasonography. The data of angiopulmography, multislice computed tomography of the brain were obtained using a Siemens Somatom Emotion 16 tomograph (Siemens, Germany).

Deep vein thrombosis, arterial thrombosis were diagnosed by ultrasound examination of vessels. Ultrasound examination of the heart and blood vessels was performed using a Sonoline G60 S device (Siemens, USA), in M-type and B-type modes, using pulsed and continuous-wave Doppler sonography.

Genomic DNA was isolated from 6–10 ml of venous blood using the phenol-chloroform extraction. Polymorphisms of the genes of the hemostatic system and the folate cycle were tested using real-time polymerase chain reaction (PCR) and DNA Technology (Russia) kits: rs6046 (10976 G>A) of the *F7* gene, rs5985 (103G>T) of the gene *F13*, rs1800790 (-455 G>A) of the *FGB* gene, rs1799963 (20210 G>A) of the *F2* gene, rs6025 (1691 G>A) of the *F5* gene, rs1126643 (807 C>T) of the *ITGA2* gene, rs5918 (1565 T>C) of the *ITGB3* gene, rs1799889 (-675 5G>4G) of the *PAI-1* gene (*SERPINE1*), rs1801131 (1298 A>C) of the *MTHFR* gene, rs1801133 (677 C>T) of the *MTHFR* gene, rs1805087 (2756 A>G) of the *MTR* gene, rs1801394 (66 A>G) of the *MTRR* gene. Polymorphisms of the *NOS3* (4a/4b) and *ACE* (rs1799752) genes were tested by PCR with flanking primers; polymorphisms of the *CTLA4* (rs231775), *MMP9* (rs11697325), *PTPN22* (rs2476601) and *IL6* (rs1800795) genes – using PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism). Genotyping was carried out at the Research Institute of Internal and Preventive Medicine (Novosibirsk, Russia).

«ДНК-технология» (Россия): rs6046 (10976 G>A) гена *F7*, rs5985 (103G>T) гена *F13*, rs1800790 (-455 G>A) гена *FGB*, rs1799963 (20210 G>A) гена *F2*, rs6025 (1691 G>A) гена *F5*, rs1126643 (807 C>T) гена *ITGA2*, rs5918 (1565 T>C) гена *ITGB3*, rs1799889 (-675 5G>4G) гена *PAI-1 (SERPINE1)*, rs1801131 (1298 A>C) гена *MTHFR*, rs1801133 (677 C>T) гена *MTHFR*, rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR*, rs1801394 (66 A>G) гена *MTRR*. Полиморфизмы генов *NOS3* (4a/4b) и *ACE* (rs1799752) тестировали с помощью ПЦР с фланкирующими праймерами; полиморфизмы генов *CTLA4* (rs231775), *MMP9* (rs11697325), *PTPN22* (rs2476601) и *IL6* (rs1800795) – с помощью ПЦР ПДРФ (полиморфизма длин рестрикционных фрагментов). Генотипирование выполняли в НИИ терапии и профилактической медицины – филиале Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (Новосибирск, Россия).

Статистический анализ проводили с помощью пакета программ SPSS, версия 21.0. Распределение частот генотипов всех однонуклеотидных полиморфизмов в контрольной группе соответствовало равновесию Харди – Вайнберга. Расчет величины отношения шансов (ОШ) проводили по методу Вульфа – Холдейна, который допускает расчеты по таблице 2×2 для случаев, когда хотя бы одна из ячеек таблицы имеет значение «ноль». Достоверность различий частот изучаемых признаков в альтернативных группах определяли по критерию  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность и по двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц – PTMF2. Для оценки развития тромбоэмболических осложнений (ТЭО) был проведен бивариантный логистический регрессионный анализ. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

АФС был подтвержден в соответствии с диагностическими критериями, проводился клинический и иммунологический скрининг в 100 % случаев. В группе пациентов с НЭ отмечались патологические изменения со стороны нервной, сердечно-сосудистой системы, тромбоз сосудов плаценты. Отличительной особенностью НЭ было течение рецидивирующих тромбозов, артериальные тромбозы следовали один за другим в 100 % случаев, таким образом, у одной пациентки частота рецидивирования острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) достигала восьми эпизодов (каждый последующий инсульт протекал тяжелее, требовался более длительный

Statistical analysis was performed using the SPSS software package, version 21.0. The distribution of genotype frequencies of all single nucleotide polymorphisms in the control group corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium. The calculation of the odds ratio (OR) was carried out according to the Woolf-Haldane test, which allows calculations according to the 2×2 table for cases where at least one of the table cells has the zero value. Significance of differences in the frequencies of the studied traits in alternative groups was determined by the  $\chi^2$  test with a Yates' continuity correction and by the two-sided version of the Fisher's exact test for four-field tables – PTMF2. To assess the development of thromboembolic complications (TEC), a bivariate logistic regression analysis was performed. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

APS was confirmed according to diagnostic criteria; clinical and immunological screening was performed in 100% of cases. In the group of patients with NIE, there were pathological changes in the nervous and cardiovascular systems, thrombosis of the placental vessels. A distinctive feature of NIE was the course of recurrent thrombosis, one episode of arterial thrombosis occurred after another in 100% of cases, thus, in one patient, the frequency of recurrence of acute cerebrovascular accident (ACVA) reached eight episodes (each subsequent stroke was more severe, a longer recovery period was required). In 25% of cases, obstetric failure was noted (recurrent miscarriage in the second and third trimester (detected in one third of women with NIE), recurrent spontaneous abortions, intrauterine fetal death, preeclampsia, preterm birth ( $p = 0.01$ )). The development of various neurological manifestations aroused our greatest interest: thrombosis of intracerebral arteries leading to stroke, transient ischemic attack without significant neurological disorders, convulsive syndrome with multi-infarct dementia (at later stages and in elderly patients), and mental disorders (depressive states). The most significant TEC of non-infectious endocarditis were ischemic stroke and myocardial infarction – 23.47 and 8.64% of cases, respectively.

As for ultrasound examination, the damage to the heart valves is associated with the presence of aCL, and is characterized by minimal changes – minor regurgitation, thickening of the valve leaflets, small and mobile vegetations, which is typical for NIE.

восстановительный период). В 25 % случаев отмечались акушерская патология (привычное невынашивание беременности во втором и третьем триместре (выявлено у трети женщин с НЭ), рецидивирующие спонтанные аборт, внутриутробная гибель плода, преэклампсия, преждевременные роды ( $p = 0.01$ )). Наибольший интерес вызвало развитие разнообразных неврологических проявлений: тромбоз внутримозговых артерий, приводящий к инсульту; транзиторная ишемическая атака без ярких неврологических нарушений; судорожный синдром с мультиинфарктной деменцией (на более поздних стадиях и у пожилых пациентов) и психическими нарушениями (депрессивными состояниями). Наиболее значимыми ТЭО неинфекционного эндокардита были ишемический инсульт и инфаркт миокарда – 23.47 и 8.64 % случаев соответственно.

Эхокардиографически поражение клапанов сердца ассоциировано с наличием АКЛ и характеризовалось минимальными изменениями – незначительная регургитация, утолщение створок клапанов, мелкие и подвижные вегетации, что характерно для НЭ. Для пациентов с НЭ характерно многоклапанное поражение митрального (88.8 % случаев) и аортального (51.3 %) клапанов ( $p = 0.03$ ).

При эндокардитах неинфекционного генеза у пациентов развиваются синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, гиперкоагуляция, тромбоцитопения и гипергомоцистеинемия. С наличием в крови ВА и антител к кардиолипину ассоциируется склонность к ТЭО, вследствие наличия поражения сердечных клапанов, их деформации и растяжения тромботическими массами. Средние значения  $VA_1$  и  $VA_2$  у пациентов с НЭ составили  $1.07 \pm 0.21$  и  $1.04 \pm 0.19$  соответственно (диагностически значимый уровень ВА – более 1.09). Причинами нарушения микроциркуляции являются микротромбозы, ремоделирование микрососудов (изменяется геометрия сосудов). Гиперфибриногенемия ( $4.24 \pm 1.3$  г/л) является самостоятельным фактором изменения реологических свойств крови как компонент плазменного гемостаза.

При изучении роли полиморфизмов 18 генов-кандидатов в развитии НЭ выявлено, что полиморфизмы rs6025 (1691 G>A) гена *F5*, 4a/4b гена *NOS3*, rs1800795 гена *IL6*, rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR* достоверно ассоциированы с развитием клапанного поражения. Как известно, нарушение фолатного цикла способствует гипергомоцистеинемии, что может приводить к гиперкоагуляции и формированию тромботических масс на сердечных клапанах [13]. Ген *MTR* кодирует

Patients with NIE are characterized by multivalvular damage of the mitral (88.8% of cases) and aortic (51.3%) valves ( $p = 0.03$ ).

Patients with non-infectious endocarditis develop a syndrome of disseminated intravascular coagulation, hypercoagulability, thrombocytopenia and hyperhomocysteinemia. The presence of LA and antibodies to cardiolipin in blood is associated with a tendency to TEC, due to the existing damage to the heart valves, their deformation and distension by thrombotic masses. The mean values of  $LA_1$  and  $LA_2$  in patients with NIE were  $1.07 \pm 0.21$  and  $1.04 \pm 0.19$ , respectively (the diagnostically significant level of LA was more than 1.09). The causes of microcirculation disorders are microthrombosis, remodeling of microvessels (changes in the geometry of vessels). Hyperfibrinogenemia ( $4.24 \pm 1.3$  g/l) is an independent factor in changes in the rheological properties of blood as a component of plasma hemostasis.

When studying the role of polymorphisms of 18 candidate genes in the development of NIE, it was found that polymorphisms rs6025 (1691 G>A) of the *F5* gene, 4a/4b of the *NOS3* gene, rs1800795 of the *IL6* gene, rs1805087 (2756 A>G) of the *MTR* gene are significantly associated with the development of valvular lesions. As is known, folate cycle disturbance contributes to hyperhomocysteinemia which can lead to hypercoagulability and the formation of thrombotic masses on the heart valves [13]. The *MTR* gene encodes the amino acid sequence of methionine synthase, one of the key enzymes of methionine metabolism, catalyzing the formation of methionine from homocysteine by its remethylation. Carrying the genotype AA rs1805087 (2756 A>G) of the *MTR* gene more than doubles the risk of developing sterile vegetations and, accordingly, determines the non-infectious genesis of endocarditis (OR = 2.22, 95% confidence interval (CI) 1.11–4.45,  $p = 0.03$ ) (Fig. 1).

In the presence of the Leiden mutation, the coagulation factor V (FV) is not cleaved by the physiological anticoagulant protein C which leads to an increase in the concentration of F5 in the blood serum. The number of carriers of the FV Leiden mutation (genotype GA) was significantly increased in NIE (8.9 vs. 3.6% in the control group,  $p = 0.04$ ) (Fig. 2). Thus, if patients with NIE have the FV Leiden mutation, it can be argued that GA polymorphism is associated with the formation of vegetations on the valvular heart apparatus. Taking into account the fact that results may affect the treatment and prognosis, the genetic testing is indicated for relatives of NIE patients from risk

аминокислотную последовательность метионинсинтазы – одного из ключевых ферментов обмена метионина, катализирующего образование метионина из гомоцистеина путем его реметилирования. Носительство генотипа AA rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR* более чем в 2 раза увеличивает риск развития «стерильных» вегетаций и соответственно определяет неинфекционный генез эндокардита (ОШ = 2.22, 95% доверительный интервал (ДИ) 1.11–4.45,  $p = 0.03$ ) (рис. 1).

При наличии мутации Лейден фактор свертывания 5 (F5) не расщепляется физиологическим антикоагулянтом С, что приводит к повышению концентрации F5 в сыворотке крови. Количество носителей мутации Лейден (генотип GA) достоверно увеличено при НЭ (8.9 против 3.6 % в контрольной группе,  $p = 0.04$ ) (рис. 2). Таким образом, при наличии у пациентов с НЭ мутации Лейден можно утверждать, что полиморфизм GA ассоциирован с формированием вегетаций на клапанном аппарате сердца. Учитывая тот факт, что результаты могут повлиять на лечение и прогноз, генетическое обследование показано родственникам пациентов с НЭ из группы риска (гормональная контрацепция, беременность, в семьях с рецидивирующими венозными тромбозами в молодом возрасте).

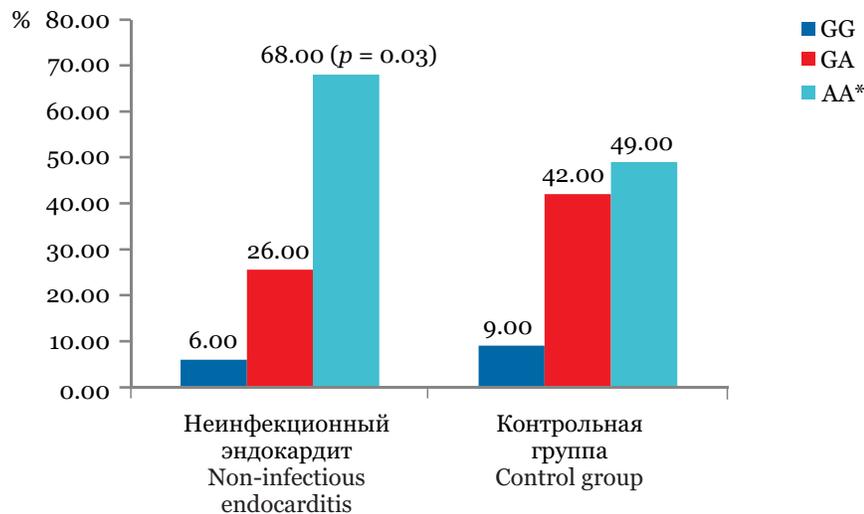
Как ранее было подтверждено, избыточная продукция протромбина является фактором риска инфаркта миокарда, венозных тромбозов, в том числе тромбоза легочной артерии, часто имеющей смертельный исход. Также является дискуссионным вопросом роль полимор-

groups (hormonal contraception, pregnancy, family history of recurrent venous thrombosis at a young age).

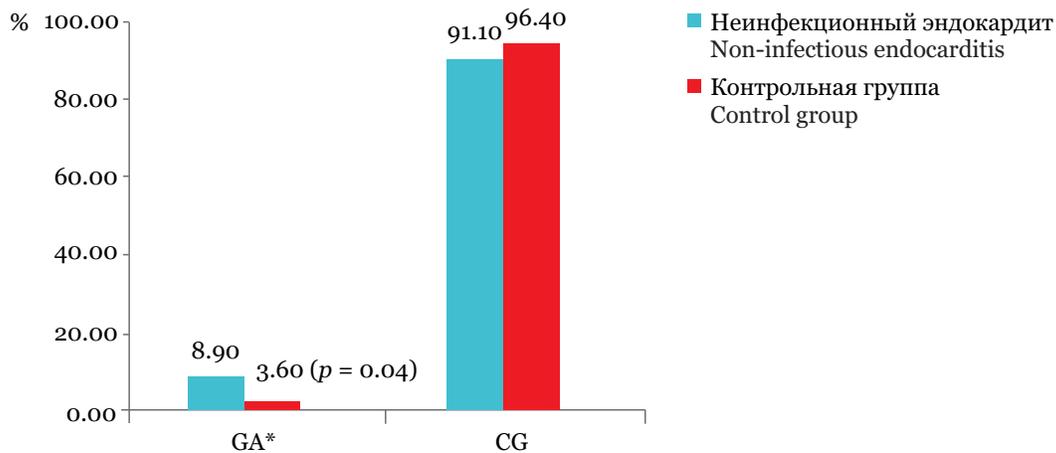
As previously confirmed, an excessive production of prothrombin is a risk factor for myocardial infarction, venous thrombosis, including pulmonary embolism, which is often fatal. The role of the rs1799963 (20210 G>A) polymorphism of the *F2* gene in the development of arterial thrombosis is also a debatable issue [14]. Among our patients with NIE, there were no carriers of the prothrombogenic polymorphism AG of the *F2* gene.

The *IL6* gene encodes the interleukin-6 protein, which is involved in the development of the immune response, triggering the acute phase of inflammation. The CC genotype indicates a significantly reduced expression of the *IL6* gene. Presumably, in the case of damage to the valvular heart apparatus in APS, an excessive production of IL-6 due to an autoimmune reaction causes valvulitis, followed by the formation of sterile vegetations. We have shown that the NIE group is characterized by a decrease in the frequency of the CC genotype (OR = 0.28, 95% CI 0.08–0.96,  $p = 0.03$ ). Accordingly, the CC genotype can be considered conditionally protective against the non-infectious endocarditis development.

In the study of polymorphisms of the *NOS3* synthase gene, the frequency of carriage of the 4b/4b genotype of the *NOS3* gene in the group of healthy individuals was higher than in patients with endocarditis, i.e. the presence of the 4b/4b genotype of the *NOS3* gene reduces the likelihood of developing



**Рис. 1.** Частоты генотипов полиморфизма rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR* в контрольной группе и в группе с неинфекционным эндокардитом (\*  $p < 0.05$ )  
**Fig. 1.** Frequency rate of genotypes of rs1805087 polymorphism (2756 A>G) of the *MTR* gene in the control group and in the group with non-infectious endocarditis (\*  $p < 0.05$ )



**Рис. 2.** Частоты генотипов полиморфизма rs6025 (1691 G>A) гена *F5* в контрольной группе и в группе с неинфекционным эндокардитом (\*  $p < 0.05$ )  
**Fig. 2.** Frequency rate of genotypes of rs6025 (1691 G>A) polymorphism of the *F5* gene in the control group and in the group with non-infectious endocarditis (\*  $p < 0.05$ )

физма rs1799963 (20210 G>A) гена *F2* в развитии артериального тромбоза [14]. Среди наших пациентов с НЭ носителей протромбогенного полиморфизма AG гена *F2* не оказалось.

Ген *IL6* кодирует белок интерлейкин-6, который участвует в развитии иммунного ответа, запускающая острую фазу воспаления. Генотип CC свидетельствует о значительно сниженной экспрессии гена *IL6*. Предположительно в случае поражения клапанного аппарата сердца при АФС избыточная продукция IL-6 вследствие аутоиммунной реакции вызывает вальвулит с последующим формированием «стерильных» вегетаций. Нами показано, что для группы НЭ характерно снижение частоты генотипа CC (ОШ = 0.28, 95% ДИ 0.08–0.96,  $p = 0.03$ ). Соответственно, генотип CC можно считать условно протективным в развитии эндокардита неинфекционной природы.

При исследовании полиморфизмов гена синтазы *NOS3* частота носительства генотипа 4b/4b гена *NOS3* в группе здоровых лиц оказалась выше, чем у пациентов с эндокардитами, т.е. наличие генотипа 4b/4b гена *NOS3* уменьшает вероятность развития НЭ (ОШ = 0.44, 95% ДИ 0.22–0.9,  $p = 0.03$ ) (рис. 3). Таким образом, снижение содержания оксида азота нарушает нормальное функционирование сосудов, повышает тонус сосудистой стенки и усиливает тромбообразование, а увеличение активности *NOS3* является протективным фактором в развитии НЭ.

Среди тромбоэмболических осложнений неинфекционного эндокардита наиболее часто отмечается ишемическое поражение головного мозга. Риск ТЭО ассоциирован с размерами и

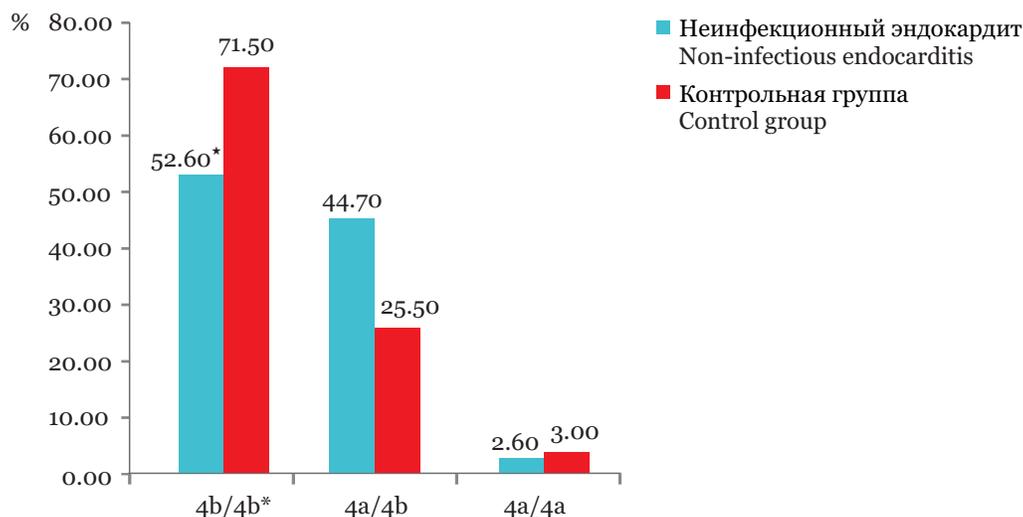
NIE (OR = 0.44, 95% CI 0.22–0.9,  $p = 0.03$ ) (Fig. 3). Thus, a decrease in the content of nitric oxide disrupts the normal functioning of blood vessels, increases the tone of the vascular wall and enhances thrombosis, while an increase in *NOS3* activity is a protective factor in the development of NIE.

Among the thromboembolic complications of non-infectious endocarditis, ischemic brain lesion is the most often noted. The risk of TEC is associated with the size and mobility of vegetations, hereditary burden and the presence of recurrent thrombosis. According to the logistic regression data, we revealed associations of polymorphisms rs1126643 (807 C>T) of the *ITGA2* gene (OR = 2.09, 95% CI 1.14–3.85,  $p = 0.02$ ) and rs1799889 (-675 5G>4G) of the *PAI-1* gene (*SERPINE1*) with the development of thromboembolic complications (ACVA) at NIE (OR = 4.12, CI 1.25–13.63,  $p = 0.02$ ).

Thus, we have identified polymorphisms of candidate genes that determine the clinical and hemostasiological characteristics of non-infectious endocarditis and contribute to the assessment of the risk of its development.

## CONCLUSION

Among the candidate genes of non-infectious endocarditis, the polymorphisms rs6025 (1691 G>A) of the *F5* gene, rs1805087 (2756 A>G) of the *MTR* gene (folate cycle) turned out to be significant. Among conditionally protective candidate genes of non-infectious endocarditis, polymorphisms 4a/4b of the *NOS3* gene, rs1800795 of the *IL6* gene have shown their significance. Given the course of hypercoagulation and hyperaggregation, one third of patients may be at risk of developing thromboem-



**Рис. 3.** Частоты генотипов 4a/4b гена *NOS3* в контрольной группе и в группе с неинфекционным эндокардитом (\*  $p < 0.05$ ; \*  $p < 0.03$ )  
**Fig. 3.** Frequency rates of 4a/4b genotypes of the *NOS3* gene in the control group and in the group with non-infectious endocarditis (\*  $p < 0.05$ ; \*  $p < 0.03$ )

подвижностью вегетаций, наследственной отягощенностью и наличием рецидивирующего характера тромбозов. По данным логистической регрессии нами установлены ассоциации полиморфизмов rs1126643 (807 C>T) гена *ITGA2* (ОШ = 2.09, 95% ДИ 1.14–3.85,  $p = 0.02$ ) и rs1799889 (-675 5G>4G) гена *PAI-1* (*SERPINE1*) с развитием тромбоэмболических осложнений (ОНМК) при НЭ (ОШ = 4.12, ДИ 1.25–13.63,  $p = 0.02$ ).

Таким образом, нами выявлены полиморфизмы генов-кандидатов, определяющие клиничко-гемостазиологические характеристики неинфекционного эндокардита и способствующие оценке риска его развития.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди генов-кандидатов неинфекционного эндокардита значимыми оказались полиморфизмы rs6025 (1691 G>A) гена *F5*, rs1805087 (2756 A>G) гена *MTR* (фолатного цикла). Среди условно протективных генов-кандидатов неинфекционного эндокардита показали свою значимость полиморфизмы 4a/4b гена *NOS3*, rs1800795 гена *IL6*. Учитывая течение гиперкоагуляции и гиперагрегации, у трети пациентов возможен риск развития тромбоэмболических осложнений. Для 2 полиморфизмов – rs1126643 (807 C>T) гена *ITGA2* и rs1799889 (-675 5G>4G) гена *PAI1* (*SERPINE1*) выявлена ассоциация с тромбоэмболическими осложнениями (острое нарушение мозгового кровообращения) при НЭ. Таким образом, одним из направлений в созда-

тельном развитии тромбозов являются тромбозов. Two polymorphisms, rs1126643 (807 C>T) of the *ITGA2* gene and rs1799889 (-675 5G>4G) of the *PAI1* gene (*SERPINE1*), were found to be associated with thromboembolic complications (acute cerebrovascular accident) in NIE. Thus, one of the directions in creating a panel of risk markers for the development of TEC in endocarditis is the study of the parameters of the hemostatic system. Additional research is needed to better understand the effect of aCL on the activation of factors contributing to the development of thrombosis, to find more accurate prognostic biomarkers to identify patients with the highest risk of thromboembolic complications associated with the presence of APS. It is advisable to perform genotyping of some single nucleotide polymorphisms in patients with APS (at risk for developing non-infectious endocarditis).

**Financing.** The research was carried out according to the State task within the framework of the budget topic of the Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences No. AAAA-A17-117112850280-2. The work was partially supported by budget projects No. 0324-2018-0002 and No. 0324-2017-0048 (isolation and storage of DNA, genotyping of single nucleotide polymorphisms).

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

нии панели маркеров риска развития ТЭО при эндокардитах является исследование параметров системы гемостаза. Необходимы дополнительные исследования, которые позволят лучше понять влияние АКЛ на активацию факторов, способствующих развитию тромбозов, найти более точные прогностические биомаркеры для выявления пациентов с наибольшим риском тромбоемболических осложнений, ассоциированных с наличием АФС. Целесообразно проводить генотипирование некоторых однонуклеотидных полиморфизмов у пациентов с АФС (группы риска развития неинфекционного эндокардита).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lopes M.R.U., Danowski A., Funke A. et al. Update on antiphospholipid antibody syndrome // *Rev. Assoc. Med. Bras.* (1992). 2017;63(11):994–999. DOI: 10.1590/1806-9282.63.11.994.
2. Gaddh M., Cheng E., Elsebaie M.A.T., Bodó I. Clinical utilization and cost of thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism // *TH Open.* 2020;4(3):e153–e162. DOI: 10.1055/s-0040-1714334.
3. Sciascia S., Amigo M.C., Roccatello D., Khamashta M. Diagnosing antiphospholipid syndrome: ‘extra-criteria’ manifestations and technical advances // *Nat. Rev. Rheumatol.* 2017;13(9):548–560. DOI: 10.1038/nrrheum.2017.124.
4. Fanouriakis A., Kostopoulou M., Alunno A. et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus // *Ann. Rheum. Dis.* 2019;78(6):736–745. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-21508.
5. Foley J.H., Walton B.L., Aleman M.M. et al. Complement activation in arterial and venous thrombosis is mediated by plasmin // *eBioMed.* 2016;5:175–182. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.011.
6. Tedesco F., Borghi M.O., Gerosa M. et al. Pathogenic role of complement in antiphospholipid syndrome and therapeutic implications // *Front. Immunol.* 2018;9:1388. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01388.
7. Chaturvedi S., Brodsky R.A., McCrae K.R. Complement in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome // *Front. Immunol.* 2019;10:449. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00449.
8. Grosso G., Vikerfors A., Woodhams B. et al. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) – A possible link between coagulation and complement activation in the antiphospholipid syndrome (APS) // *Thromb. Res.* 2017;158:168–173. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.06.028.
9. Castro-Marrero J., Balada E., Vilardell-Tarrés M., Ordi-Ros J. Genetic risk factors of thrombosis in the antiphospholipid syndrome // *Br. J. Haematol.* 2009;147(3):289–296. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07831.x.
10. Sun G., Jia Y., Meng J. et al. A genetic risk factor for thrombophilia in a Han Chinese family // *Mol.*

**Финансирование.** Работа выполнена по Государственному заданию в рамках бюджетной темы Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» № АААА-А17-117112850280-2. Работа частично поддержана бюджетными проектами № 0324-2018-0002 и 0324-2017-0048 (выделение и хранение ДНК, генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов).

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

## REFERENCES

1. Lopes M.R.U., Danowski A., Funke A. et al. Update on antiphospholipid antibody syndrome. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2017;63(11):994–999. DOI: 10.1590/1806-9282.63.11.994.
2. Gaddh M., Cheng E., Elsebaie M.A.T., Bodó I. Clinical utilization and cost of thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism. *TH Open.* 2020;4(3):e153–e162. DOI: 10.1055/s-0040-1714334.
3. Sciascia S., Amigo M.C., Roccatello D., Khamashta M. Diagnosing antiphospholipid syndrome: ‘extra-criteria’ manifestations and technical advances. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2017;13(9):548–560. DOI: 10.1038/nrrheum.2017.124.
4. Fanouriakis A., Kostopoulou M., Alunno A. et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2019;78(6):736–745. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-21508.
5. Foley J.H., Walton B.L., Aleman M.M. et al. Complement activation in arterial and venous thrombosis is mediated by plasmin. *eBioMed.* 2016;5:175–182. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.011.
6. Tedesco F., Borghi M.O., Gerosa M. et al. Pathogenic role of complement in antiphospholipid syndrome and therapeutic implications. *Front. Immunol.* 2018;9:1388. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01388.
7. Chaturvedi S., Brodsky R.A., McCrae K.R. Complement in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Front. Immunol.* 2019;10:449. DOI:10.3389/fimmu.2019.00449.
8. Grosso G., Vikerfors A., Woodhams B. et al. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) – A possible link between coagulation and complement activation in the antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb. Res.* 2017;158:168–173. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.06.028.
9. Castro-Marrero J., Balada E., Vilardell-Tarrés M., Ordi-Ros J. Genetic risk factors of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Br. J. Haematol.* 2009;147(3):289–296. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07831.x.
10. Sun G., Jia Y., Meng J. et al. A genetic risk factor for thrombophilia in a Han Chinese family. *Mol. Med. Rep.* 2017;15(4):1668–1672. DOI: 10.3892/mmr.2017.6217.

- Med. Rep. 2017;15(4):1668–1672. DOI: 10.3892/mmr.2017.6217.
11. Hirmerova J., Seidlerova J., Subrt I., Slechtova J. Thrombophilia testing results in patients with a first venous thromboembolic event: should the selection criteria for testing be revisited? // *Int. Angiol.* 2017;36(2):167–173. DOI: 10.23736/S0392-9590.16.03679-8.
  12. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM) // *Eur. Heart J.* 2015;36(44):3075–3128. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv319.
  13. Hmimech W., Idrissi H.H., Diakite B. et al. Association of C677T MTHFR and G20210A FII prothrombin polymorphisms with susceptibility to myocardial infarction // *Biomed. Rep.* 2016;5(3):361–366. DOI: 10.3892/br.2016.717.
  14. Yoon U., Kwok L., Flessenkaemper I. Bilateral superficial femoral artery thrombosis in a 15-year-old caucasian male with homozygous prothrombin G20210A genotype and associated antiphospholipid syndrome // *Int. J. Angiol.* 2016;25(5):e100–e105. DOI: 10.1055/s-0035-1548557.
  11. Hirmerova J., Seidlerova J., Subrt I., Slechtova J. Thrombophilia testing results in patients with a first venous thromboembolic event: should the selection criteria for testing be revisited? *Int. Angiol.* 2017;36(2):167–173. DOI: 10.23736/S0392-9590.16.03679-8.
  12. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur. Heart J.* 2015;36(44):3075–3128. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv319.
  13. Hmimech W., Idrissi H.H., Diakite B. et al. Association of C677T MTHFR and G20210A FII prothrombin polymorphisms with susceptibility to myocardial infarction. *Biomed. Rep.* 2016;5(3):361–366. DOI: 10.3892/br.2016.717.
  14. Yoon U., Kwok L., Flessenkaemper I. Bilateral superficial femoral artery thrombosis in a 15-year-old caucasian male with homozygous prothrombin G20210A genotype and associated antiphospholipid syndrome. *Int. J. Angiol.* 2016;25(5):e100–e105. DOI: 10.1055/s-0035-1548557.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Бахарева Юлия Сергеевна** – младший научный сотрудник лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия.

**Максимов Владимир Николаевич** – д-р мед. наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия.

**Чапаева Наталья Николаевна** – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

## ABOUT THE AUTHORS

**Yulia S. Bakhareva** – Junior Researcher, Laboratory of Clinical, Population based and Preventive Research on Internal and Endocrine Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

**Vladimir N. Maksimov** – Dr. Sci. (Med.), Head, Laboratory of Molecular and Genetic Research of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

**Natalya N. Chapaeva** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Hospital Therapy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

## Структурные изменения в печени мышей при БЦЖ-гранулематозе и применении окисленного декстрана в возрастной динамике

А.А. Абышев<sup>1</sup>, А.П. Надеев<sup>1, 2</sup>, М.А. Дудин<sup>1</sup>, А.Б. Логинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Туберкулезный гранулематоз у новорожденных и детей встречается значительно реже, чем у взрослых, и в особенности его висцеральные формы, в том числе поражение печени. Окисленный декстран усиливает продукцию кислородных радикалов, цитотоксический и бактерицидный потенциал фагоцитов, ускоряет процесс фаголизосомного слияния и элиминации возбудителя, снижая гранулематозный воспалительный процесс в органах.

**Ц е л ь и с с л е д о в а н и я .** Изучить морфологические изменения в печени мышей от периода новорожденности до взрослого возраста при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** Мышей линии С57В1/6 (всего 200 особей) разделили на 4 группы: мышам из 1-й (интактной) группы вводили 0.02 мл/кг 0.9% раствора натрия хлорида в первые сутки после рождения. Мышам из 2-й группы на 2-е сутки после рождения вводили раствор окисленного декстрана молекулярной массой 40 кДа. Мышам из 3-й группы в первые сутки с момента рождения вводили раствор вакцины БЦЖ 0.02 мг/кг. Мышам 4-й группы вводили раствор вакцины БЦЖ 0.02 мг/кг, на вторые сутки с момента рождения – раствор окисленного декстрана молекулярной массой 40 кДа.

**Р е з у л ь т а т ы .** Численная плотность ( $N_{ai}$ ) гранулем в печени прогрессивно увеличивалось с 28-х к 56-м суткам эксперимента у мышей 3-й и 4-й групп в 13.5 раза. Однако у мышей 4-й группы количество гранулем было меньшим в 1.4 раза в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й группы. Диаметр гранулем в печени у мышей 4-й группы был меньшим на 28-е и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й группы в 2 раза и 1.3 раза соответственно. У мышей 4-й группы объемная плотность ( $Vv$ ) дистрофически измененных гепатоцитов с 3-х по 5-е сутки была меньшей в 8 раз в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й группы, на 10-е и 28-е сутки – в 1.7 и 1.2 раза соответственно.  $Vv$  очагов некроза гепатоцитов у мышей 4-й группы не отличалась от аналогичного показателя у мышей 1-й (интактной) и 2-й (контрольной) групп во все периоды наблюдения и была меньшей на 3-и и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы в 3 раза. На 28-е и 56-е сутки эксперимента у мышей из 3-й и 4-й групп отмечается увеличение  $N_{ai}$  двуядерных гепатоцитов и гепатоцитов с митозами в сравнении с аналогичным показателем у мышей 1-й и 2-й групп. У мышей 4-й группы количество двуядерных гепатоцитов, отражающее репаративную регенерацию гепатоцитов, было большим на 28-е и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й группы в 1.8 раза.

**З а к л ю ч е н и е .** Гранулемообразование (количество и диаметр гранулем) в печени мышей при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана было выражено в меньшей степени в сравнении с не лечеными окисленным декстраном животными, что свидетельствует об эффективной элиминации возбудителя в фагоцитах. Деструктивные изменения (дистрофические изменения и некроз гепатоцитов) в паренхиме печени мышей при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана значительно снижаются, при этом активизируются процессы репаративной регенерации в паренхиме печени мышей, что обусловлено гепатотропным эффектом окисленного декстрана.

**Ключевые слова:** гранулематозное воспаление, печень, мышцы, окисленный декстран, возрастные изменения.

**Образец цитирования:** Абышев А.А., Надеев А.П., Дудин М.А., Логинова А.Б. Структурные изменения в печени мышей при БЦЖ-гранулематозе и применении окисленного декстрана в возрастной динамике // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):62–73. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-62-73

Поступила в редакцию 29.03.2022  
Прошла рецензирование 06.06.2022  
Принята к публикации 13.06.2022

Автор, ответственный за переписку  
Надеев Александр Петрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.  
E-mail: nadeevngma@mail.ru

Received 29.03.2022  
Revised 06.06.2022  
Accepted 13.06.2022

Corresponding author  
Alexandr P. Nadeev: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny pr., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: nadeevngma@mail.ru

## Structural changes in the liver of mice with BCG granulomatosis and the use of oxidized dextran in age dynamics

A.A. Abyshev<sup>1</sup>, A.P. Nadeev<sup>1,2</sup>, M.A. Dudin<sup>1</sup>, A.B. Loginova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Tubercular granulomatosis in newborns and children is much less common than in adults, and especially its visceral forms, including hepatic lesion. Oxidized dextran enhances the production of oxygen radicals, cytotoxic and bactericidal potential of phagocytes, accelerates the process of phagolysosomal fusion and elimination of the pathogen, reducing the granulomatous inflammatory process in organs.

**A i m .** To study morphological changes in the liver of mice from the neonatal period to adulthood with the BCG vaccine administration and use of oxidized dextran.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** Mice of the C57B1/6 line (200 animals in total) were divided into 4 groups: mice from the 1st (intact) group were injected with 0.02 ml/kg of 0.9% sodium chloride solution on the first day after birth. Mice from the 2nd group on the 2nd day after birth were injected with a solution of oxidized dextran with a molecular mass of 40 kDa. Mice from the 3rd group were injected with a solution of the BCG vaccine of 0.02 ml/kg on the first day after birth. Mice of the 4th group were injected with a solution of the BCG vaccine of 0.02 ml/kg, on the second day after birth – a solution of oxidized dextran with a molecular mass of 40 kDa.

**R e s u l t s .** The numerical density ( $N_{ai}$ ) of granulomas in the liver progressively increased from 28th to 56th day of the experiment in mice of the 3rd and 4th groups by 13.5 times. However, in mice of the 4th group, the number of granulomas was 1.4 times less than in mice of the 3rd group. The diameter of granulomas in the liver in mice of the 4th group was smaller on the 28th and 56th days in comparison with the same indicator in mice of the 3rd group by 2 times and 1.3 times, respectively. In mice of the 4th group, the volume density ( $Vv$ ) of degenerated hepatocytes from 3rd to 5th day was 8 times lower compared to the same indicator in mice of the 3rd group, on the 10th and 28th days – 1.7 and 1.2 times, respectively.  $Vv$  of foci of hepatocyte necrosis in mice of the 4th group did not differ from that in mice of the 1st (intact) and 2nd (control) groups in all periods of observation, and was less on the 3rd and 56th days in comparison with the same indicator in mice of the 3rd (BCG) group by 3 times. On the 28th and 56th days of the experiment, mice from the 3rd and 4th groups showed an increase in the  $N_{ai}$  of binuclear hepatocytes and hepatocytes with mitoses in comparison with the same indicator in mice of the 1st and 2nd groups. In mice of the 4th group, the number of binuclear hepatocytes, reflecting the reparative regeneration of hepatocytes, was 1.8 times greater than in mice of the 3rd group on the 28th and 56th days.

**C o n c l u s i o n .** Granulomas formation (the number and diameter of granulomas) in the liver of mice with the administration of the BCG vaccine and use of oxidized dextran was less marked in comparison with animals not treated with oxidized dextran, which indicates the effective elimination of the pathogen in phagocytes. Destructive changes (degeneration and necrosis of hepatocytes) in the liver parenchyma of mice with the injection of the BCG vaccine and subsequent use of oxidized dextran are significantly reduced, while the processes of reparative regeneration in the liver parenchyma of mice are activated, which is due to the hepatotropic action of oxidized dextran.

**Keywords:** granulomatous inflammation, liver, mice, oxidized dextran, age-related changes.

**Citation example:** Abyshev A.A., Nadeev A.P., Dudin M.A., Loginova A.B. Structural changes in the liver of mice with BCG granulomatosis and the use of oxidized dextran in age dynamics. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):62–73. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-62-73

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на общую тенденцию снижения заболеваемости и смертности от туберкулеза в Российской Федерации и мире в целом, он продолжает занимать ведущее место в структуре заболеваемости и смертности [1]. В 2020 г. зарегистрировано 47 063 новых случая заболевания в Российской Федерации, показатель заболеваемости составил 32.07 на 100 тыс. населения. В 2020 г. наиболее высокая заболеваемость туберкулезом

### INTRODUCTION

Despite the general tendency of decreasing morbidity and mortality rates from tuberculosis in the Russian Federation and the world as a whole, the disease continues to occupy a leading place in the morbidity and mortality structure [1]. In 2020, 47 063 new cases of tuberculosis were registered in the Russian Federation, the incidence rate was 32.07 per 100 000 population. In 2020, the highest incidence of tuberculosis in the Russian Federation con-

на территории Российской Федерации продолжает регистрироваться в Сибирском, Дальневосточном и Уральском федеральных округах: 57.58, 53.47 и 43.56 на 100 тыс. населения соответственно, хотя в них также отмечается уменьшение показателя заболеваемости на 22.25, 19.34 и 22.3 % соответственно по сравнению с 2019 г. [2].

Заболеваемость детей от 0 до 17 лет с впервые выявленным активным туберкулезом в период с 2009 по 2020 г. также имеет общую тенденцию к снижению. Медленнее всего снижение наблюдается в возрастной категории детей от 0 до 1 года [1, 2]. Туберкулез у новорожденных и детей встречается значительно реже, чем у взрослых, и в особенности его висцеральные формы, в том числе поражение печени с развитием тяжелых осложнений в виде фиброза и цирроза, а также летальных исходов.

Также одной из важных проблем, связанных с туберкулезом, является лекарственная устойчивость микобактерий к стандартным и распространенным противомикробным препаратам. В настоящее время одним из основных препаратов для лечения туберкулеза является изониазид, который обладает выраженной гепатотоксичностью. В этой связи поиск и разработка новых эффективных противотуберкулезных лекарственных препаратов является приоритетной задачей современной медицины и фтизиатрии.

Ранее показано, что конъюгированный с окисленным декстраном (ОД) изониазид является эффективным противотуберкулезным средством, обеспечивающим адресную доставку препарата в фагоциты, содержащие возбудителей. ОД обладает свойством лизосомотропизма и избирательно захватывается клетками Купфера, активирует их фагоцитарную активность путем ускорения формирования фаголизосом [3]. Также было продемонстрировано, что ОД обладает слабо выраженным прямым антиоксидантным свойством, но при этом является индуктором внутриклеточного окислительного стресса, проявляющегося усилением продукции кислородных радикалов, что усиливает цитотоксический и бактерицидный потенциал фагоцитов [4], тем самым способствует и ускоряет процесс фаголизосомного слияния и элиминации возбудителя, снижая гранулематозную воспалительную реакцию в органах [5].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить морфологические изменения в печени мышей от периода новорожденности до взрослого возраста при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана.

continues to be recorded in the Siberian, Far Eastern and Ural federal districts: 57.58, 53.47 and 43.56 per 100 000 population, respectively, although at the same time they show a decrease in the incidence rate by 22.25, 19.34 and 22.3%, respectively, compared to 2019 [2].

In the period from 2009 to 2020 the prevalence of newly diagnosed active tuberculosis among children aged from 0 to 17 years also showed a general downward trend. The slowest decrease is observed in the age category of children from 0 to 1 year [1, 2]. Tuberculosis in newborns and children is much less common than in adults, and especially its visceral forms, including the liver affection with the development of severe complications such as fibrosis and cirrhosis, as well as fatal outcomes.

Also, one of the urgent problems associated with tuberculosis is the drug resistance of mycobacteria to conventional antimicrobial agents. Currently, one of the main drugs for the treatment of tuberculosis is isoniazid, which has marked hepatotoxicity. In this regard, the search and development of new effective antitubercular agents is a priority task of modern medicine and phthisiology.

It has been previously shown that isoniazid conjugated with oxidized dextran (OD) is an effective antitubercular drug that ensures the targeted drug delivery to phagocytes containing pathogens. OD has the property of lysosomotropism and is selectively captured by Kupffer cells, activates their phagocyte activity by accelerating the formation of phagolysosomes [3]. It was also demonstrated that OD has a weak direct antioxidant property, but at the same time it is an inducer of intracellular oxidative stress, manifested by increased production of oxygen radicals, which enhances the cytotoxic and bactericidal potential of phagocytes [4], thereby promoting and accelerating the process of phagolysosomal fusion and elimination of the pathogen, reducing the granulomatous inflammatory response in organs [5].

## AIM OF THE RESEARCH

To study morphological changes in the liver of mice from the neonatal period to adulthood with the BCG vaccine administration and use of oxidized dextran.

## MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out on 200 C57Bl/6 mice obtained from the laboratory for breeding experimental animals – Laboratory of Genetics of Experimental Animals, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Novosibirsk).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на 200 мышах линии C57Bl/6, полученных из лаборатории разведения экспериментальных животных Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).

Содержание животных осуществлялось в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» в пластмассовых клетках по 5 особей: 1 самец и 4 самки при свободном доступе к корму и воде, длительности светового дня 12 ч. Ежедневно определяли начало беременности со дня обнаружения во влагалище копулятивной пробки, после чего мышисамки перемещались в отдельные клетки. Все манипуляции с инфицированными животными, органами, тканями проводились в боксе с активной вентиляцией.

Мышей разделили на 4 группы: мышам из 1-й (интактной) группы интраперитонеально вводили 0.02 мл/кг 0.9% раствора натрия хлорида в первые сутки после рождения. Мышам из 2-й (ОД, контрольной) группы вводили на 2-е сутки после рождения интраперитонеально раствор окисленного декстрана молекулярной массой 40 кДа (Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск). Мышам из 3-й (БЦЖ) группы в первые сутки жизни интраперитонеально вводили раствор вакцины БЦЖ 0.02 мг/кг. Мышам 4-й (БЦЖ + ОД) группы интраперитонеально вводили раствор вакцины БЦЖ 0.02 мг/кг, на вторые сутки с момента рождения – раствор ОД молекулярной массой 40 кДа, также интраперитонеально.

Эвтаназию мышей линии C57Bl/6 осуществляли путем дислокации шейных позвонков под эфирным наркозом. Образцы печени забирали на 3-и, 5, 10, 28 и 56-е сутки от начала эксперимента, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной проводке через спирты с повышением концентрации, после чего материал заливали парафином. Серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

При морфометрическом исследовании в печени подсчитывали объемную плотность (Vv) паренхимы печени, дистрофически измененных гепатоцитов, очагов некрозов гепатоцитов, численную плотность ( $N_{ai}$ ) гранул, митозов в гепатоцитах, двоядерных гепатоцитов в тестовой площади ( $5.6 \times 10^5$  мкм<sup>2</sup>). При помощи окуляр-микрометра измеряли диаметры гранул (мкм).

Морфологические и морфометрические исследования проводили на микроскопе ZEISS

The animals were kept in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or other Scientific Purposes in plastic cages for 5 animal units: 1 male and 4 females with free access to food and water, daylight duration of 12 h per day. On a daily basis, the onset of pregnancy was determined from the day a copulation plug was found in the vagina, after which female mice were transferred to individual cages. All manipulations with infected animals, organs, tissues were carried out in a box with active ventilation.

Mice were divided into 4 groups: mice from the 1st (intact) group were intraperitoneally injected with 0.02 ml/kg of 0.9% sodium chloride solution on the first day after birth. On the 2nd day after birth, mice from the 2nd (OD, control) group were intraperitoneally injected with a solution of oxidized dextran, with a molecular mass of 40 kDa (Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk). On the first day of life, mice from the 3rd (BCG) group were intraperitoneally injected with a BCG vaccine solution of 0.02 ml/kg. Mice of the 4th (BCG + OD) group were intraperitoneally injected with a solution of BCG vaccine of 0.02 ml/kg, on the second day after birth – a solution of OD with a molecular mass of 40 kDa, also intraperitoneally.

Euthanasia of C57Bl/6 mice was carried out by dislocation of the cervical vertebrae under ether anesthesia. Liver samples were taken on the 3rd, 5th, 10th, 28th and 56th days from the start of the experiment, fixed in a 10% neutral formalin solution, then subjected to the conventional tissue processing through ethanol of increasing concentrations, after which the material was embedded in paraffin. Serial sections of 5 μm were stained with hematoxylin and eosin.

During a morphometric study in the liver, the volume density (Vv) of the liver parenchyma, degenerated hepatocytes, foci of hepatocyte necrosis; the numerical density ( $N_{ai}$ ) of granulomas, hepatocyte mitoses, and binuclear hepatocytes in the test area ( $5.6 \times 10^5$  μm<sup>2</sup>) were calculated. Using an eyepiece micrometer, the diameters of granulomas (μm) were measured.

Morphological and morphometric studies were performed using a ZEISS Primo Star microscope (Germany). The data obtained were processed by statistical analysis using the STATISTICA software package. The probability of significance of differences between the compared mean values was determined using Student's *t*-test in a normal distribution of the values of the studied parameters. Differences between the compared mean values were considered significant at  $p < 0.05$ .

Primo Star (Германия). Полученные данные обрабатывали методами статистического анализа с использованием программного пакета STATISTICA. Вероятность достоверности различий сравниваемых средних величин определяли при помощи критерия Стьюдента при условии нормального распределения величин исследуемых параметров. Различия между сравниваемыми средними величинами считали достоверными при  $p < 0.05$ .

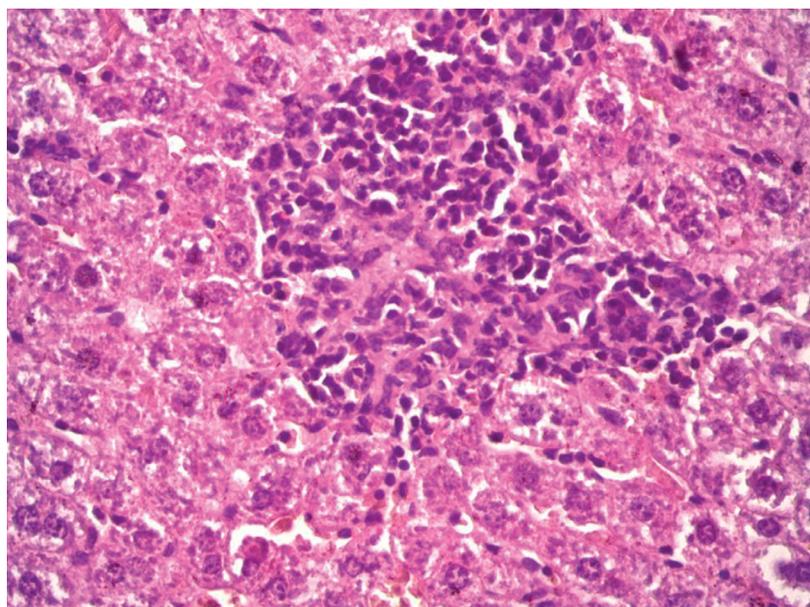
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 10-е сутки эксперимента у мышей из 3-й группы (БЦЖ) появлялись единичные мелкие макрофагальные гранулемы, расположенные преимущественно периваскулярно. На 28-е и 56-е сутки эксперимента все гранулемы в печени были эпителиоидно-клеточными (рис. 1). Количество ( $N_{ai}$ ) гранул в печени прогрессивно увеличивалось начиная с 28-х к 56-м суткам эксперимента у мышей 3-й (БЦЖ) и 4-й (БЦЖ + ОД) групп в 13.5 раза. Однако у мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы количество гранул было меньшим в 1.4 раза в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы (рис. 2). При этом диаметр гранул в печени у мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы был меньшим на 28-е и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы в 2 и 1.3 раза соответственно (рис. 3). Отсроченное появление грану-

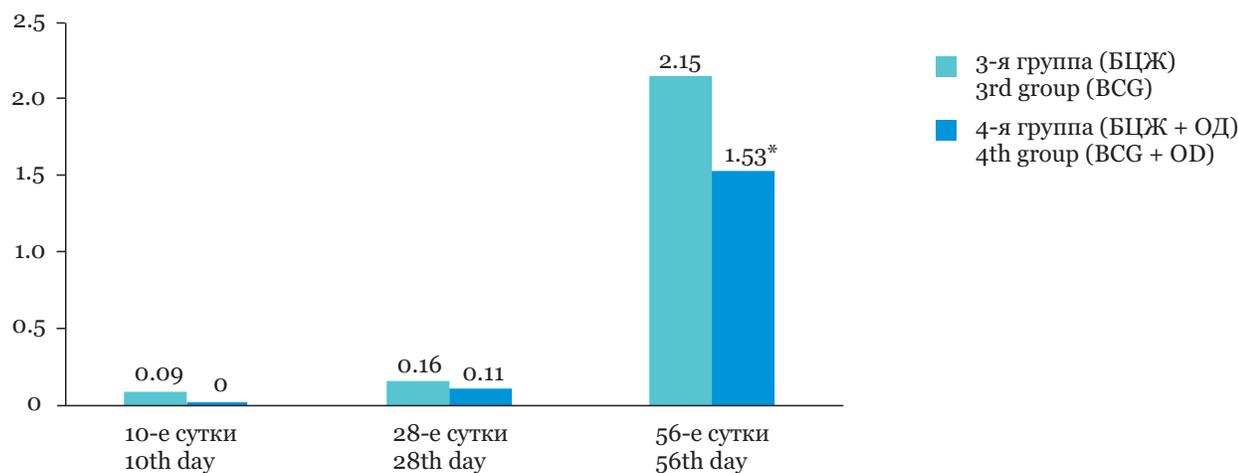
## RESULTS AND DISCUSSION

On the 10th day of the experiment, mice from the 3rd group (BCG) developed single small macrophage-derived granulomas, predominantly perivascular. On the 28th and 56th days of the experiment, all granulomas in the liver were epithelioid cell (Fig. 1). The number ( $N_{ai}$ ) of liver granulomas progressively increased from 28th to 56th day of the experiment in mice of the 3rd (BCG) and 4th (BCG + OD) groups by 13.5 times. However, in mice of the 4th (BCG + OD) group, the number of granulomas was 1.4 times less than in mice of the 3rd (BCG) group (Fig. 2). At the same time, the diameter of liver granulomas in mice of the 4th (BCG + OD) group was smaller on 28th and 56th days compared to the same indicator in mice of the 3rd (BCG) group by 2 and 1.3 times, respectively (Fig. 3). The delayed appearance of granulomas (on the 10th day) after the administration of the BCG vaccine on the first day of life is probably due to the immaturity of the macrophage component of the immune system in newborn C57Bl/6 mice and the persistence of the pathogen in Kupffer cells. Previously, the ability of pathogens to persist in the vacuolar apparatus of Kupffer cells for 40 days was demonstrated: fungal cells were detected in phagosomes of Kupffer cells in 2-month-old C57Bl/6 mice infected with *C. albicans* in utero [6].

In addition, complete phagocytosis of *M. tuberculosis* by resident and recruited macrophages is difficult, and it is impossible in newborn underweight



**Рис. 1.** Эпителиоидно-клеточная гранулема в печени мыши линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ на 56-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение (ув.)  $\times 400$   
**Fig. 1.** Epithelioid cell granuloma in the liver of a C57Bl/6 mouse after BCG vaccine administration on the 56th day of the experiment. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification (magn.)  $\times 400$

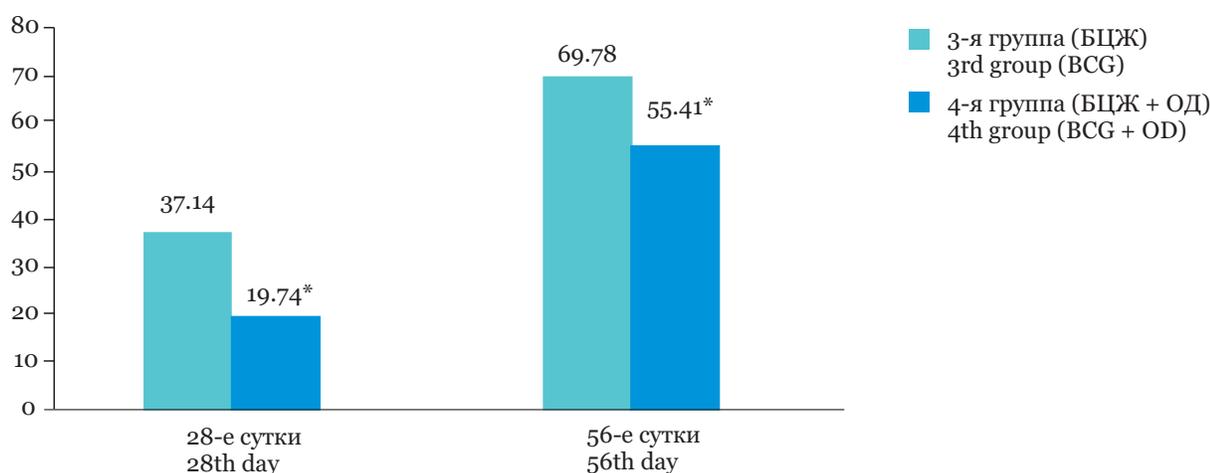


**Рис. 2.** Динамика численной плотности ( $N_{ai}$ ) гранул в печени мышей линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана (\* достоверные отличия средних величин в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей 3-й (БЦЖ) группы ( $p < 0.05$ ))  
**Fig. 2.** Dynamics of the numerical density ( $N_{ai}$ ) of granulomas in the liver of C57Bl/6 mice after the BCG vaccine administration and use of oxidized dextran (\* significant differences in the mean values compared with the value of the same indicator in mice of the 3rd (BCG) group ( $p < 0.05$ ))

лем (на 10-е сутки) после введения на первые сутки жизни вакцины БЦЖ, вероятно, обусловлено незрелостью макрофагального звена иммунной системы у новорожденных мышей линии C57Bl/6 и персистенцией возбудителя в клетках Купфера. Ранее была продемонстрирована способность возбудителей сохраняться в вакуолярном аппарате клеток Купфера в течение 40 дней: в фагосомах клеток Купфера определялись клетки гриба у 2-месячных мышей линии C57Bl/6, инфицированных внутриутробно *C. albicans* [6].

mice [7–9]. In the liver of mice during severe alteration, pro-inflammatory (M1) macrophages persist, which are responsible for phagocytosis and maintenance of the chronic process, while M2 (anti-inflammatory) macrophages are found in the liver in much smaller numbers [10]. In BCG granulomatosis, the macrophages are polarized predominantly through activation of the M2 pathway, which subsequently leads to their transformation into epithelioid cells [11] and formation of epithelioid cell granulomas.

Kupffer cells are resident macrophages and granuloma-forming cells. OD contributes to the accelera-



**Рис. 3.** Диаметр гранул (мкм) в печени мышей линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ и окисленного декстрана (\* достоверные отличия средних величин в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей 3-й (БЦЖ) группы ( $p < 0.05$ ))  
**Fig. 3.** Granuloma diameter ( $\mu\text{m}$ ) in the liver of C57Bl/6 mice after the BCG vaccine administration and use of oxidized dextran (\* significant differences in the mean values compared to the value of the same indicator in mice of group 3 (BCG) ( $p < 0.05$ ))

Кроме того, полный фагоцитоз *M. tuberculosis* резидентными и рекрутированными макрофагами затруднен, а у новорожденных мышей с дефицитом массы тела и невозможен [7–9]. В печени мышей во время выраженной альтерации персистируют провоспалительные макрофаги 1-го типа, ответственные за фагоцитоз и поддержание хронического процесса, в то время как макрофаги 2-го типа обнаруживают в печени в значительно меньшем количестве [10]. В условиях БЦЖ-гранулематоза макрофаги поляризуются преимущественно по M2 пути, что приводит в дальнейшем к трансформации этих клеток в эпителиоидные клетки [11] и образованию эпителиоидно-клеточных гранул.

Клетки Купфера являются резидентными макрофагами и гранулемообразующими клетками. ОД способствует ускорению процесса фаголизосомного слияния путем усиления NO-синтезной активности, преобладанию классически активированных макрофагов и элиминации возбудителя и тем самым приводит к уменьшению гранулемогенеза. Д.В. Нещадим и др. (2017) показали усиление экспрессии катепсинов В и D макрофагами *in vitro* при исследовании влияния липосомальной формы конъюгированного декстрана и изониазида (декстразида) [12]. Клетки Купфера при антигенной стимуляции выделяют хемоаттрактанты для рекрутирования в очаг воспаления моноцитов и нейтрофилов. Меньший диаметр гранул в печени мышей при применении ОД связан с тем, что при раннем и завершеном фагоцитозе и, как следствие, элиминации возбудителя происходит снижение выделения хемоаттрактантов клетками Купфера.

Также большую роль в адекватной элиминации патогенных микроорганизмов играет гистоархитектоника печени у новорожденных мышей: гепатоциты расположены рыхло, и балочное строение с четкой сосудистой системой отсутствует (рис. 4), что приводит к задержке патогена в печени и более поздней презентации антигенов резидентными макрофагами – клетками Купфера [13].

При микроскопическом исследовании печени на 28-е и 56-е сутки наблюдали мелко-, средне- и крупновоакуольную дистрофию гепатоцитов, вплоть до баллонной, очаги некрозов гепатоцитов, наличие двуядерных гепатоцитов, сужение синусоидов (рис. 5).

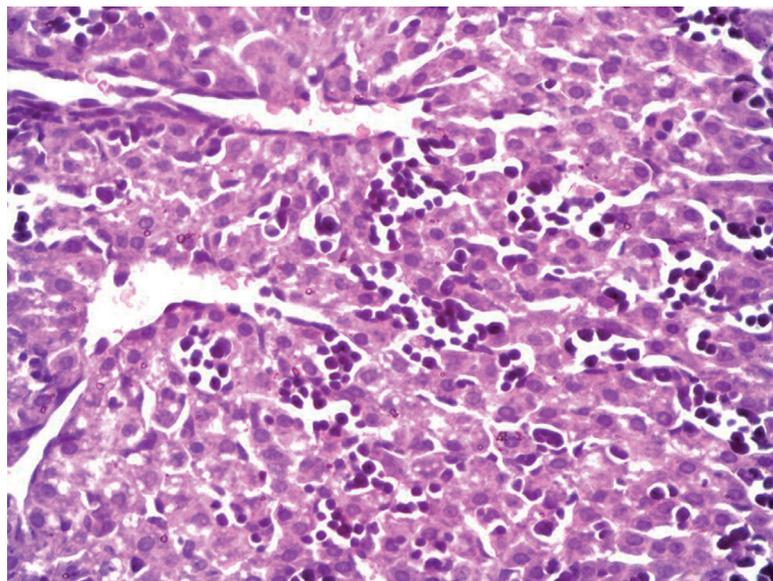
При морфометрическом исследовании отмечали, что у мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы объемная плотность (Vv) дистрофически измененных гепатоцитов с 3-х по 5-е сутки была меньше

tion of the phagolysosomal fusion process by enhancing NO-synthase activity, to the predominance of classically activated macrophages and elimination of the pathogen, and thereby to a decrease in granulogenesis. D.V. Neshchadim et al. (2017) showed an enhancement of the expression of cathepsins B and D by macrophages *in vitro* when studying the effect of the liposomal form of conjugated dextran and isoniazid (dextrazide) [12]. Upon antigenic stimulation, the Kupffer cells evolve chemoattractants to recruit monocytes and neutrophils to the site of inflammation. The smaller diameter of liver granulomas in mice upon the use of OD, is due to the fact that in early and complete phagocytosis and, as a result, elimination of the pathogen, a decrease in the release of chemoattractants by Kupffer cells takes place.

The liver histoarchitecture of newborn mice also plays an important role in the adequate elimination of pathogenic microorganisms: hepatocytes are located loosely, and there is no beamed structure with a clear vascular system (Fig. 4), which entails the retention of the pathogen in the liver and delayed presentation of antigens by resident macrophages – Kupffer cells [13].

Microscopic examination of the liver on the 28th and 56th days revealed small-, medium-, and large-vacuolar degeneration of hepatocytes, up to ballooning, foci of liver cell necrosis, presence of hepatocytes, and narrowing of the sinusoids (Fig. 5).

During the morphometric study, it was noted that in mice of the 4th (BCG + OD) group, the volume density (Vv) of degenerated hepatocytes from 3rd to 5th day was 8 times less compared to the same indicator in mice of the 3rd (BCG) group (Table 1). On the 10th and 28th days in the liver of mice of the 4th (BCG + OD) group, the volume density (Vv) of degenerated hepatocytes was lower compared to that in mice of the 3rd (BCG) group by 1.7 and 1.2 times, respectively, and by the 56th day of the experiment, no differences in this indicator between mice of the 3rd (BCG) and 4th (BCG + OD) groups were found. Volume density (Vv) of foci of necrosis in mice of the 4th (BCG + OD) group did not differ from that in mice of the 1st (intact) and 2nd (control) groups during overall follow-up period, and was lower by the 3rd and 56th day in comparison with the same indicator in mice of the 3rd (BCG) group by 3 times. Destructive changes (degeneration and necrosis of hepatocytes) in the liver parenchyma are associated with the toxic effects of mycobacteria and the slowed process of granuloma formation [14]. OD, having such a property as lysosomotropism, can be selectively captured by cells, thus initiating intracellular regeneration and restoration of the smooth endoplasmic retic-



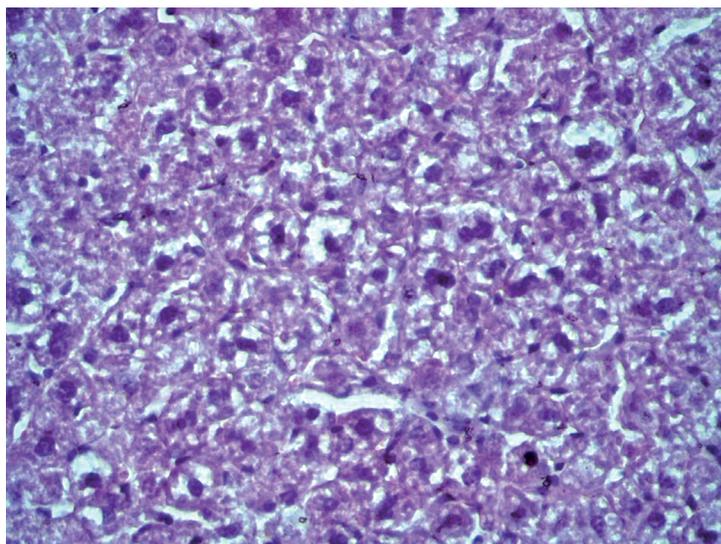
**Рис. 4.** Печень мыши линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ на 3-и сутки эксперимента: вакуольная дистрофия и очаги некрозов гепатоцитов, очаги экстрамедуллярного кроветворения. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 400$

**Fig. 4.** C57Bl/6 mouse liver after the BCG vaccine administration, the 3rd day of the experiment: vacuolar degeneration and foci of hepatocyte necrosis, foci of extramedullary hematopoiesis. Stained with hematoxylin and eosin. Magn.  $\times 400$

в 8 раз в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы (табл. 1). На 10-е и 28-е сутки в печени у мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы объемная плотность (Vv) дистрофически измененных гепатоцитов была меньшей в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы в 1.7 и 1.2 раза соответственно, а к

ulum, since vacuolar degeneration of hepatocytes is caused by damage to the smooth endoplasmic reticulum, increase in its permeability and accumulation of pathological metabolites, i.e. OD in toxic hepatitis has a marked hepatoprotective effect [15].

On 28th and 56th days of the experiment in mice of the 3rd (BCG) and 4th (BCG + OD) groups, an



**Рис. 5.** Печень мыши линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ на 56-е сутки эксперимента: вакуольная и баллонная дистрофия гепатоцитов, очаги некрозов, двуядерные гепатоциты. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 400$

**Fig. 5.** C57Bl/6 mouse liver after the BCG vaccine administration on the 56th day of the experiment: vacuolar and ballooning degeneration of hepatocytes, foci of necrosis, binuclear hepatocytes. Stained with hematoxylin and eosin. Magn.  $\times 400$

**Таблица 1.** Объемная плотность (Vv) дистрофически измененных гепатоцитов и очагов некрозов гепатоцитов мышей линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана (M ± m)**Table 1.** Volume density (Vv) of degenerated hepatocytes and foci of hepatocytes necrosis of mice of the C57Bl/6 line with the BCG vaccine administration and use of oxidized dextran (M ± m)

Параметры Indicators	Группа Group	3-и сутки 3rd day	5-е сутки 5th day	10-е сутки 10th day	28-е сутки 28th day	56-е сутки 56th day
Дистрофически измененные гепатоциты Degenerated hepatocytes	1-я / 1st	0.46 ± 0.03	1.01 ± 0.27	3.27 ± 0.31	1.34 ± 0.41	0.38 ± 0.05
	2-я / 2nd	0.48 ± 0.05	0.46 ± 0.1	0.44 ± 0.06	0.51 ± 0.02	0.48 ± 0.07
	3-я / 3rd	22.20 ± 0.58*	34.26 ± 0.59*	41.24 ± 0.93*	28.84 ± 0.54*	15.76 ± 0.42*
	4-я / 4th	6.8 ± 0.32**	3.8 ± 0.38**	24.2 ± 0.69**	25.2 ± 0.61*	14.16 ± 0.32*
Очаги некрозов гепатоцитов Foci of hepatocyte necrosis	1-я / 1st	0.7 ± 0.27	0.2 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.84 ± 0.16	0.16 ± 0.03
	2-я / 2nd	0.24 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.16 ± 0.03
	3-я / 3rd	4.84 ± 0.13*	0.24 ± 0.02	0.52 ± 0.04	0.28 ± 0.06	3.00 ± 0.14*
	4-я / 4th	0.14 ± 0.06	0.4 ± 0.05	0.44 ± 0.05	1.48 ± 0.18	0.84 ± 0.08*

\* Достоверные отличия средних величин в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей 1-й (интактной) группы ( $p < 0.05$ ).

Significant differences in the mean values compared with the value of the same indicator in mice of the 1st (intact) group ( $p < 0.05$ ).

\* В сравнении с мышами 3-й (БЦЖ) группы ( $p < 0.05$ ).

Compared with mice of the 3rd (BCG) group ( $p < 0.05$ ).

56-м суткам эксперимента различия этого показателя между мышами 3-й (БЦЖ) и 4-й (БЦЖ + ОД) групп не обнаруживали. Объемная плотность (Vv) очагов некроза у мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы не отличалась от аналогичного показателя у мышей 1-й (интактной) и 2-й (контрольной) групп во все периоды наблюдения и была меньше на 3-и и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы в 3 раза. Деструктивные изменения (дистрофические изменения и некроз гепатоцитов) в паренхиме печени связаны с токсическим воздействием микобактерий и замедленным процессом формирования гранулем [14]. ОД, обладая таким свойством, как лизосомотропизм, может избирательно захватываться клетками и инициировать внутриклеточную регенерацию и восстановление гладкого эндоплазматического ретикулума, так как вакуольная дистрофия гепатоцитов обусловлена повреждением гладкого эндоплазматического ретикулума, увеличением его проницаемости и накоплением патологических метаболитов, т.е. ОД при токсическом гепатозе обладает выраженным гепатопротекторным эффектом [15].

На 28-е и 56-е сутки эксперимента у мышей 3-й (БЦЖ) и 4-й (БЦЖ + ОД) групп отмечается увеличение численной плотности ( $N_{ai}$ ) двуядерных гепатоцитов и гепатоцитов с митозами в сравнении с аналогичным показателем у мышей 1-й (интактной) и 2-й (контрольной) групп (табл. 2). У мышей 4-й (БЦЖ + ОД) группы количество двуядерных гепатоцитов, отражающее репаративную регенерацию гепатоцитов, было

increase in the numerical density ( $N_{ai}$ ) of binuclear hepatocytes and hepatocytes with mitoses was noted in comparison with the same indicator in mice of the 1st (intact) and 2nd (control) groups (Table 2). In mice of the 4th (BCG + OD) group, the number of binuclear hepatocytes, reflecting the reparative regeneration of hepatocytes, was 1.8 times higher than in mice of the 3rd (BCG) group.

It is known that Kupffer cells are actively involved in the regulation of the process of liver regeneration. Thus, the release of TNF- $\alpha$  by Kupffer cells can increase the expression of IL-6, additionally inducing the transition of liver cells from the G<sub>0</sub> to the G<sub>1</sub> phase and promoting hepatocyte proliferation [16, 17]. It was also shown that the blockage of Kupffer cells and damage to hepatocytes significantly slowed down the processes of hepatocyte regeneration [18, 19]. It is assumed that multinucleated state of hepatocytes protects these cells from toxic damage by increasing the number of copies of functional genes; this may be especially important for the liver, which implement a major detoxification function in the body. Also, this method of proliferation is more energy efficient [20].

## CONCLUSION

The research allows us to draw the following conclusions:

1. Granuloma formation (the number and diameter of granulomas) in the liver of mice with the administration of the BCG vaccine and OD was less pronounced than in mice without the use of OD, which indicates the effective elimination of the pathogen in phagocytes.

**Таблица 2.** Численная плотность ( $N_{ai}$ ) двуядерных гепатоцитов и митозов в гепатоцитах у мышей линии C57Bl/6 при введении вакцины БЦЖ и применении окисленного декстрана ( $M \pm m$ )

**Table 2.** Numerical density ( $N_{ai}$ ) of binuclear hepatocytes and mitoses in hepatocytes in C57Bl/6 mice after the BCG vaccine and oxidized dextran ( $M \pm m$ )

Параметры Indicators	Группа Group	3-и сутки 3rd day	5-е сутки 5th day	10-е сутки 10th day	28-е сутки 28th day	56-е сутки 56th day
Митозы в гепатоцитах Mitoses in hepatocytes	1-я / 1st	0	0.09 ± 0.03	0.09 ± 0.03	1.01 ± 0.19	0.09 ± 0.03
	2-я / 2nd	0.11 ± 0.03	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.05	0.2 ± 0.05	0.08 ± 0.03
	3-я / 3rd	0	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.15 ± 0.04	0.03 ± 0.01
	4-я / 4th	0	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	1.19 ± 0.05*	0.21 ± 0.08
Двуядерные гепатоциты Binuclear hepatocytes	1-я / 1st	0.15 ± 0.06	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.52 ± 0.26	1.8 ± 0.18
	2-я / 2nd	0.09 ± 0.03	0.06 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.21 ± 0.05	0.8 ± 0.08
	3-я / 3rd	0.1 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.03 ± 0.02	1.49 ± 0.09*	1.53 ± 0.06*
	4-я / 4th	0.07 ± 0.03	0.16 ± 0.05	0.04 ± 0.02	2.75 ± 0.08*	2.63 ± 0.18*

\* Достоверные отличия средних величин в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей 1-й (интактной) группы ( $p < 0.05$ ).

Significant differences in the mean values compared with the value of the same indicator in mice of the 1st (intact) group ( $p < 0.05$ ).

большим на 28-е и 56-е сутки в сравнении с аналогичным показателем у мышей 3-й (БЦЖ) группы в 1.8 раза.

Известно, что клетки Купфера принимают активное участие в регулировании процесса регенерации печени. Так, высвобождение TNF- $\alpha$  клетками Купфера может увеличить экспрессию IL-6, дополнительно индуцируя переход клеток печени из фазы G0 в фазу G1 и способствуя пролиферации гепатоцитов [16, 17]. Также было показано, что при блокаде клеток Купфера и повреждении гепатоцитов процессы регенерации гепатоцитов существенно замедлялись [18, 19]. Предполагается, что многоядерность в гепатоцитах способна защищать гепатоциты от токсического повреждения путем увеличения числа копий функциональных генов; это может быть особенно важно для печени, которая играет основную детоксикационную функцию в организме. Также такой способ пролиферации является более энергоэффективным [20].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Гранулемообразование (количество и диаметр гранулем) в печени мышей при введении вакцины БЦЖ и ОД было выражено в меньшей

2. Destructive changes (degeneration and necrosis of hepatocytes) in the liver parenchyma of mice with the administration of the BCG vaccine and use of OD are reduced significantly due to the hepatoprotective effect of OD.

3. Owing to the use of OD after the BCG vaccine administration, the processes of reparative regeneration in the liver parenchyma of mice are activated.

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

степени, чем у мышей без применения ОД, что свидетельствует об эффективной элиминации возбудителя в фагоцитах.

2. Деструктивные изменения (дистрофические изменения и некроз гепатоцитов) в паренхиме печени мышей при введении вакцины БЦЖ и применении ОД значительно снижаются, что обусловлено гепатопротекторным эффектом ОД.

3. В условиях применения ОД после введения вакцины БЦЖ активизируются процессы репаративной регенерации в паренхиме печени мышей.

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

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global Tuberculosis Report 2021. Geneva: World Health Organization, 2021. 57 p.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.: Федераль-

### REFERENCES

1. *Global Tuberculosis Report 2021* (2021). Geneva: World Health Organization. 57 p.
2. *On the State of Sanitary and Epidemiological Well-being of the Population in the Russian Federation in 2019: State Report* (2020). Moscow: Federal Service

- ная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. 299 с.
3. Шкурупий В.А. Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия. М.: Изд-во РАМН, 2007. 536 с.
  4. Ткачев В.О., Зайковская М.В., Троицкий А.В., Лузгина Н.В., Шкурупий В.А. Влияние окисленных декстранов на продукцию активных форм кислорода фагоцитами перитонеального экссудата мышей // Биомедицинская химия. 2013;59(1):81–89.
  5. Старостенко А.А., Троицкий А.В., Медведев В.С. и др. Исследование фармакокинетики окисленных декстранов // Химико-фармацевт. журнал. 2015;49(12):3–6. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-12-3-6.
  6. Надеев А.П., Шкурупий В.А., Маринкин И.О. Печень и плацента в пери- и постнатальный периоды при патологии: Клинико-экспериментальное исследование. Новосибирск: Наука, 2014. 244 с.
  7. Helmo F.R., Alves E.A.R., Moreira R.A.A. et al. Intrauterine infection, immune system and premature birth // J. Matern.-Fetal Neonatal Med. 2018;31(9):1227–1233. DOI: 10.1080/14767058.2017.1311318.
  8. Upadhyay S., Mittal E., Philips J.A. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation // Pathog. Dis. 2018;76(4):fty037. DOI: 10.1093/femspd/fty037.
  9. Khan N., Vidyarthi A., Pahari S., Agrewala J.N. Distinct strategies employed by dendritic cells and macrophages in restricting *Mycobacterium tuberculosis* infection: Different philosophies but same desire // Int. Rev. Immunol. 2016;35(5):386–398. DOI: 10.3109/08830185.2015.1015718.
  10. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation // Nat. Rev. Immunol. 2008;8(12):958–969. DOI: 10.1038/nri2448.
  11. Ильин Д.А., Шкурупий В.А. Особенности M1/M2-поляризации макрофагов БЦЖ-инфицированных мышей *in vitro* // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2020;169(4):449–451.
  12. Нещадим Д.В., Архипов С.А., Шкурупий В.А., Ахраменко Е.С., Троицкий А.В. Исследование влияния липосомальной формы декстразида на экспрессию катепсинов В и D макрофагами *in vitro* // Сиб. науч. мед. журн. 2017;37(6):16–21.
  13. Nakagaki B.N., Mafra K., de Carvalho E. et al. Immune and metabolic shifts during neonatal development reprogram liver identity and function // J. Hepatol. 2018;69(6):1294–1307. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.08.018.
  14. Alexander B., Guzail M.A., Foster C.S. Morphological changes during hepatocellular maturity in neonatal rats // Anat. Rec. 1997;248(1):104–109. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0185(199705)248:1<104::AID-AR12>3.0.CO;2-T.
  15. Mohareer K., Asalla S., Banerjee S. Cell death at the cross roads of host-pathogen interaction in *Mycobacterium tuberculosis* infection // Tuberculosis (Edinb.). 2018;113:99–121. DOI: 10.1016/j.tube.2018.09.007.
  16. Шкурупий В.А., Карпов М.А., Ключин В.Д. Влияние окисленного декстрана на гепатоциты крыс при токсическом гепатозе смешанной этиологии // Сиб. науч. мед. журн. 2021;41(5):25–30. DOI: 10.18699/SSMJ20210503.
  - for the Oversight of Consumer Protection and Welfare. 299 p. (In Russ.)
  3. Shkurupiy V.A. (2007). *Tuberculous Granulomatosis. Cytophysiology and Targeted Therapy*. Moscow: Publishing House of RAMS. 536 p. (In Russ.)
  4. Tkachev V.O., Zaikovskaya M.V., Troitsky A.V., Luzgina N.G., Skurupy V.A. Oxidised dextrans influence on reactive oxygen species generation by murine peritoneal exudate phagocytic cells. *Biomedical Chemistry*. 2013;59(1):81–89. (In Russ.)
  5. Starostenko A.A., Troitskii A.V., Medvedev V.S. et al. Studying pharmacokinetics of oxidized dextrans. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(12):3–6. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-12-3-6. (In Russ.)
  6. Nadeev A.P., Shkurupiy V.A., Marinkin I.O. (2014). *The Liver and Placenta in the Peri- and Postnatal Periods in Pathology: Clinical and Experimental Study*. Novosibirsk: Science. 244 p. (In Russ.)
  7. Helmo F.R., Alves E.A.R., Moreira R.A.A. et al. Intrauterine infection, immune system and premature birth. *J. Matern.-Fetal Neonatal Med*. 2018;31(9):1227–1233. DOI: 10.1080/14767058.2017.1311318.
  8. Upadhyay S., Mittal E., Philips J.A. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation. *Pathog. Dis*. 2018;76(4):fty037. DOI: 10.1093/femspd/fty037.
  9. Khan N., Vidyarthi A., Pahari S., Agrewala J.N. Distinct strategies employed by dendritic cells and macrophages in restricting *Mycobacterium tuberculosis* infection: Different philosophies but same desire. *Int. Rev. Immunol*. 2016;35(5):386–398. DOI: 10.3109/08830185.2015.1015718.
  10. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Rev. Immunol*. 2008;8(12):958–969. DOI: 10.1038/nri2448.
  11. Il'in D.A., Shkurupiy V.A. The features of M1/M2 polarization of macrophages of BCG-infected mice *in vitro*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020;169(4):449–451. (In Russ.)
  12. Neshchadim D.V., Arkhipov S.A., Shkurupiy V.A., Akhramenko E.S., Troitskiy A.V. Study of the effect of liposomal form of dextrazid on the expression of cathepsin B and D macrophages *in vitro*. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2017;37(6):16–21. (In Russ.)
  13. Nakagaki B.N., Mafra K., de Carvalho E. et al. Immune and metabolic shifts during neonatal development reprogram liver identity and function. *J. Hepatol*. 2018;69(6):1294–1307. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.08.018.
  14. Alexander B., Guzail M.A., Foster C.S. Morphological changes during hepatocellular maturity in neonatal rats. *Anat. Rec*. 1997;248(1):104–109. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0185(199705)248:1<104::AID-AR12>3.0.CO;2-T.
  15. Mohareer K., Asalla S., Banerjee S. Cell death at the cross roads of host-pathogen interaction in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Tuberculosis (Edinb.)*. 2018;113:99–121. DOI: 10.1016/j.tube.2018.09.007.
  16. Shkurupiy V.A., Karpov M.A., Klochin V.D. Effect of oxidized dextran on rat hepatocytes in toxic hepatitis of mixed etiology. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2021;41(5):25–30. DOI: 10.18699/SSMJ20210503. (In Russ.)
  17. Fausto N., Campbell J.S., Riehle K.J. Liver regeneration. *J. Hepatol*. 2000;32(1):19–31.

17. Fausto N., Campbell J.S., Riehle K.J. Liver regeneration // *J. Hepatol.* 2000;32(1):19–31.
18. Fujiyoshi M., Ozaki M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases // *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 2011;18(1):13–22. DOI: 10.1007/s00534-010-0304-2.
19. Wang C.P., Zhou L., Su S.H. et al. Augmenter of liver regeneration promotes hepatocyte proliferation induced by Kupffer cells // *World J. Gastroenterol.* 2006;12(30):4859–4865. DOI: 10.3748/wjg.v12.i30.4859.
20. Анацкая О.В., Виноградов А.Е. Полногеномные дубликации в эволюции, онтогенезе и патологии: резерв сложности и запаса прочности // *Молекулярная биология.* 2021;55(6)927–943. DOI: 10.31857/S0026898421060021.
18. Fujiyoshi M., Ozaki M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 2011;18(1):13–22. DOI: 10.1007/s00534-010-0304-2.
19. Wang C.P., Zhou L., Su S.H. et al. Augmenter of liver regeneration promotes hepatocyte proliferation induced by Kupffer cells. *World J. Gastroenterol.* 2006;12(30):4859–4865. DOI: 10.3748/wjg.v12.i30.4859.
20. Anatskaya O.V., Vinogradov A.E. Whole-genome duplication in evolution, ontogenesis and pathology: complexity and emergency reserve. *Molecular Biology.* 2021;55(6)927–943. DOI: 10.31857/S0026898421060021. (In Russ.)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Абышев Александр Андреевич** – аспирант кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-8036-7990.

**Надеев Александр Петрович** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0400-1011.

**Дудин Михаил Анатольевич** – канд. мед. наук, доцент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Логина Анастасия Борисовна** – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

## ABOUT THE AUTHORS

**Alexandr A. Abyshev** – Postgraduate Student, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8036-7990.

**Alexandr P. Nadeev** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0400-1011.

**Mikhail A. Dudin** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapeutic Dentistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Anastasia B. Loginova** – 6th year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.



## Влияние умеренного употребления алкоголя на здоровье пожилых россиян: исследование в отношении количества алкоголя, рекомендованного для населения Японии

Г. фон Фингергут<sup>1</sup>, А. Мегуро<sup>1</sup>, К.Ю. Макаров<sup>2</sup>, Ю.О. Ким<sup>2</sup>, Е.Г. Кондюрина<sup>2</sup>, Л.А. Яковлева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Университет Цукубы, Цукуба, Япония

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

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Доля чистого алкоголя (ЧА) на душу населения в Российской Федерации (РФ) высока, а умеренное потребление алкоголя особенно значимо для пожилых россиян. В 2008 г. Министерство здравоохранения, труда и социальной политики Японии (японцы считаются одной из самых здоровых наций в мире) рекомендовало ежедневное умеренное потребление ЧА в количестве менее 20 г/день. В РФ рекомендаций по ежедневному умеренному потреблению алкоголя для пожилых людей еще не введено.

**Ц е л ь .** Выявление факторов, связанных с ежедневным умеренным потреблением ЧА и с его физическими и социальными последствиями среди пожилых людей, согласно рекомендациям для японской популяции, с целью рассмотрения возможности применения этих рекомендаций для населения России.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** Кросс-секционное исследование проведено среди 770 пожилых россиян в возрасте 60 лет и старше. Для обработки полученных данных использовались методы описательной статистики. Вычислялись отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ). Проведен логистический регрессионный анализ, с выборкой, стратифицированной по полу.

**Р е з у л ь т а т ы .** В результате логистического регрессионного анализа среди употреблявших алкоголь участников была обнаружена корреляция между употреблением более 20 г ЧА в день с полом (ОШ = 0.582; 95% ДИ: 0.351–0.966), гипертонией (ОШ = 0.384; 95% ДИ: 0.223–0.661), проживанием в одиночестве (ОШ = 0.453; 95% ДИ: 0.256–0.803), причиной употребления алкоголя – снятием стресса (ОШ = 4.580; 95% ДИ: 2.313–9.069), получением наслаждения от жизни (ОШ = 3.015; 95% ДИ: 1.207–7.531), употреблением алкоголя в одиночку (ОШ = 2.480; 95% ДИ: 1.079–5.703) и в кругу семьи (ОШ = 2.586; 95% ДИ: 1.506–4.439). В результате стратификационного анализа выявлено, что среди мужчин употребление алкоголя значительно коррелировало с гипертонией (ОШ = 0.216; 95% ДИ: 0.090–0.521), стремлением снизить уровень стресса (ОШ = 2.530; 95% ДИ: 1.043–6.136), употреблением алкоголя в одиночку (ОШ = 5.454; 95% ДИ: 1.699–17.510) и в кругу семьи (ОШ = 4.934; 95% ДИ: 2.003–12.154). У женщин употребление алкоголя значительно коррелировало с проживанием в одиночестве (ОШ = 0.455; 95% ДИ: 0.228–0.907), стремлением снизить уровень стресса (ОШ = 5.274; 95% ДИ: 2.092–13.299), получить удовольствие от жизни (ОШ = 4.669; 95% ДИ: 1.218–17.899) и употреблением алкоголя в кругу семьи (ОШ = 2.077; 95% ДИ: 1.069–4.033).

**З а к л ю ч е н и е .** Для улучшения здоровья и увеличения продолжительности жизни пожилых россиян крайне важно умеренное потребление алкоголя. Тем не менее исследование относительно пороговой отметки (20 г ЧА) ежедневного употребления алкоголя, предложенной японской системой здравоохранения, в применении к пожилым россиянам не выявило существенной разницы в характеристиках здоровья пожилых людей, свидетельствуя о необходимости рекомендовать другое количество ЧА. Чрезмерное потребление алкоголя имело место среди пожилых россиян, пьющих в одиночестве и для снятия стресса, что указывает на риск социальной изоляции и неадекватное понимание доз алкоголя для достижения седативного эффекта. Употребление алкоголя в семье может привести к более высокому уровню дневного потребления алкоголя среди пожилых россиян, тогда как гендерные различия в потреблении алкоголя относительно количества 20 г в день должны быть учтены, особенно у женщин. Влияние умеренного употребления алкоголя на гипертонию требует дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** Россия, пожилые, алкоголь, умеренное употребление алкоголя, 20 г/день, социализация, семья, стресс, Япония, здравоохранение.

**Образец цитирования:** фон Фингергут Г., Мегуро А., Макаров К.Ю., Ким Ю.О., Кондюрина Е.Г., Яковлева Л.А. Влияние умеренного употребления алкоголя на здоровье пожилых россиян: исследование в отношении количества алкоголя, рекомендованного для населения Японии // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):74–95. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-74-95

Поступила в редакцию 29.11.2021  
Прошла рецензирование 02.02.2022  
Принята к публикации 22.02.2022

Автор, ответственный за переписку  
Георг фон Фингергут: Университет Цукубы, корпус D (комплексных исследований), Теннодаи, Цукуба, префектура Ибараки, 305-8577, Япония.  
E-mail: s1830346@u.tsukuba.ac.jp

Received 29.11.2021  
Revised 02.02.2022  
Accepted 22.02.2022

Corresponding author  
Georg von Fingerhut: University of Tsukuba, Comprehensive Research Building D, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki Prefecture, 305-8577 Japan.  
E-mail: s1830346@u.tsukuba.ac.jp

## Effects of moderate alcohol consumption on the health of elderly Russians: a study in reference to the amount recommended to the population of Japan

G. von Fingerhut<sup>1</sup>, A. Meguro<sup>1</sup>, K.Yu. Makarov<sup>2</sup>, Yu.O. Kim<sup>2</sup>, E.G. Kondyurina<sup>2</sup>, L.A. Yakovleva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

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

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** The proportion of pure alcohol (PA) per capita in the Russian Federation (RF) is high, and moderate alcohol consumption is important for elderly Russians. In 2008, the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (the Japanese are considered one of the healthiest nations in the world) recommended a daily moderate consumption of less than 20 g/day of PA. In the Russian Federation, recommendations on daily moderate alcohol consumption for elderly persons have not yet been introduced.

**A i m .** To clarify the factors associated with the daily moderate PA consumption and its physical and social effects on the elderly people, using in reference the recommendations for the Japanese population, in order to consider the possibility of their adaptation among the Russian population.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** A cross-sectional study was conducted among 770 elderly Russians aged 60 years and older. Methods of descriptive statistics were used to process the obtained data. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated. A logistic regression analysis was performed, with a sample stratified by gender.

**R e s u l t s .** The logistic regression analysis among drinking participants found correlations between consumption of more than 20 g of PA per day with gender (OR = 0.582; 95% CI: 0.351–0.966), hypertension (OR = 0.384; 95% CI: 0.223–0.661), living alone (OR = 0.453; 95% CI: 0.256–0.803), the reason for alcohol intake – stress relief (OR = 4.580; 95% CI: 2.313–9.069), enjoyment of life (OR = 3.015; 95% CI : 1.207–7.531), drinking alone (OR = 2.480; 95% CI: 1.079–5.703) and with the family (OR = 2.586; 95% CI: 1.506–4.439). As a result of the stratified analysis, it was found that among male participants, alcohol consumption significantly correlated with hypertension (OR = 0.216; 95% CI: 0.090–0.521), the desire to reduce stress (OR = 2.530; 95% CI: 1.043–6.136), drinking alone (OR = 5.454; 95% CI: 1.699–17.510) and with the family (OR = 4.934; 95% CI: 2.003–12.154). Among women, alcohol consumption significantly associated with living alone (OR = 0.455; 95% CI: 0.228–0.907), the desire to reduce stress (OR = 5.274; 95% CI: 2.092–13.299), and enjoy life (OR = 4.669; 95% CI: 1.218–17.899) and drinking alcohol in the family (OR = 2.077; 95% CI: 1.069–4.033).

**C o n c l u s i o n .** The introduction of daily moderate alcohol consumption is crucial for improving the health and life expectancy of elderly Russians. However, the attempt to adapt the Japanese health policy for the Russian Federation showed no significant difference in the health characteristics of elderly people, indicating the need to introduce other possible cutoffs for daily moderate alcohol consumption. Excessive alcohol consumption occurred among Russian older people drinking alone and to relieve stress, which indicates a risk of social isolation and misunderstanding of doses for alcohol's sedative effects. Family drinking may result in higher daily alcohol consumption among elderly people, whereas gender differences in alcohol consumption with a cutoff of 20 g per day need to be considered, especially among women. The effect of moderate alcohol consumption on hypertension requires further study.

**Keywords:** Russia, elderly people, alcohol, moderate alcohol consumption, 20 g/day, socialization, family, stress, Japan, health care.

**Citation example:** von Fingerhut G., Meguro A., Makarov K.Yu., Kim Yu.O., Kondyurina E.G., Yakovleva L.A. Effects of moderate alcohol consumption on the health of elderly Russians: a study in reference to the amount recommended to the population of Japan. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):74–95. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-74-95

### ВВЕДЕНИЕ

В 2010 г. Российская Федерация занимала третье место в мире по уровню потребления алкоголя на душу населения [1]. В период с 2010 по 2016 г. потребление алкоголя существенно снизилось с 15.8 л в год (34 г/день) до 11.7 л в год (26 г/день) чистого алкоголя (ЧА) на душу населения [1]. Тем не менее доля смертей, связанных с употреблением алкоголя, по-прежнему высока – 21.6 % [1]. Поскольку с возрастом масса отдельных органов и

### INTRODUCTION

In 2010, the Russian Federation ranked third in the world in terms of per capita alcohol consumption [1]. Between 2010 and 2016, alcohol consumption decreased significantly from 15.8 l per year (34 g/day) to 11.7 l per year (26 g/day) of pure alcohol (PA) per capita [1]. Nevertheless, the proportion of deaths associated with alcohol consumption is still high – 21.6% [1]. Since individual organ mass and resting metabolic rate decrease with age [2], and the

скорость метаболизма в состоянии покоя уменьшаются [2], а влияние употребления алкоголя на здоровье пожилых людей имеет J-образную связь [3–5], пожилым людям становится особенно опасно поддерживать тот же уровень потребления алкоголя, что и в молодом возрасте. Учитывая высокое потребление алкоголя среди россиян [1], недельные рекомендации по умеренному употреблению алкоголя могут быть восприняты неоднозначно, тогда как введение рекомендаций по дневному умеренному потреблению ЧА особенно важно для здоровья пожилых россиян.

В 2008 г. Министерство здравоохранения, труда и социальной политики Японии (японцы считаются одной из самых здоровых наций в мире) рекомендовало ежедневное умеренное потребление ЧА в количестве менее 20 г [6]. Аналогичное количество также рекомендовано для ежедневного умеренного употребления в соседних с Российской Федерацией странах, таких как Армения [7] и Грузия [8], страны Балтии и Балканского региона – Хорватия [9], Босния и Герцеговина [10], Албания [11] и Словения [12]; странах с более холодным климатом, таких как Финляндия [13] и Норвегия [14], а также в Швейцарии [15], Люксембурге [16], Франции [17], Австралии [18] и Сингапуре [19].

В наших предыдущих исследованиях среди пожилых людей Японии ежедневное умеренное потребление 20 г ЧА было связано с активным образом жизни [20]. Насколько нам известно, в других странах подобных исследований не проводилось. В Российской Федерации рекомендации по ежедневному умеренному потреблению алкоголя среди пожилых людей все еще не введены, и это первое исследование, в котором изучаются влияние потребления 20 г/день ЧА на качество жизни, физические и социальные факторы, связанные с употреблением алкоголя относительно указанного количества, а также причины потребления алкоголя среди пожилых россиян.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление факторов, связанных с ежедневным умеренным потреблением ЧА и с его физическими и социальными последствиями среди пожилых людей, согласно рекомендациям для японской популяции, с целью рассмотрения возможности применения этих рекомендаций для населения России.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кросс-секционное исследование было проведено посредством анкетного опроса в период с

impact of alcohol consumption on the health among elderly has a J-shaped association [3–5], it becomes especially dangerous for elderly people to maintain the same level of alcohol consumption as in young age. Given the high alcohol consumption among Russians [1], weekly recommendations for moderate alcohol consumption may be perceived ambiguously, while the introduction of recommendations for daily moderate consumption of PA is especially important for the health of elderly Russians.

In 2008, the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (the Japanese are considered one of the healthiest nations in the world) recommended a daily moderate intake of PA in an amount of less than 20 g [6]. A similar amount is also recommended for daily moderate consumption in neighboring countries of the Russian Federation such as Armenia [7] and Georgia [8], the Baltic and Balkan countries – Croatia [9], Bosnia and Herzegovina [10], Albania [11] and Slovenia [12]; countries with colder climates such as Finland [13] and Norway [14], as well as Switzerland [15], Luxembourg [16], France [17], Australia [18] and Singapore [19].

In our previous studies among elderly people in Japan, a daily moderate intake of 20 g of PA was associated with an active lifestyle [20]. To the best of our knowledge, no such studies have been conducted in other countries. In the Russian Federation, recommendations for daily moderate alcohol consumption among the elderly have not yet been introduced, and this is the first study investigating the effects of PA consumption of 20 g/day on the quality of life, physical and social factors associated with alcohol consumption relative to the specified amount, and also reasons for alcohol consumption among elderly Russians.

## AIM OF THE RESEARCH

Revealing of factors associated with daily moderate PA intake and its physical and social effects among the elderly, according to the recommendations for the Japanese population, in order to consider the possibility of their applying to the Russian population.

## MATERIALS AND METHODS

The cross-sectional study was conducted as a questionnaire survey between April 3 and June 30, 2019 among elderly Russians aged 60 and over. To conduct the survey, we came into contact with representatives of organizations that support the health of elderly people living in the studied regions, and recruitment was carried out. Criteria for the study participant selection: age 60 and older, resi-

3 апреля по 30 июня 2019 г. среди пожилых россиян в возрасте 60 лет и старше. Для проведения опроса был установлен контакт с представителями организаций по поддержке здоровья пожилых людей, проживающих в исследуемых регионах, и проведен рекрутинг. Критерии отбора респондентов: возраст 60 лет и старше, проживание в период проведения исследования в г. Владивостоке и Приморском крае, г. Новосибирске и Новосибирской области и способность самостоятельно заполнить анкету. Респонденты были «не алкоголиками» и не имели истории алкоголизма. Выборка из 428 чел. была необходима для точного определения уровня значимости 5 и 10 % [21].

Основными параметрами, которые характеризовали респондентов, были: возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), медицинское лечение, проживание, рабочий статус, статус физической активности на период проведения исследования. Для оценки качества жизни использовался опросник Short Form-8 Health Survey (SF-8): определялась сумма баллов по физическому компоненту здоровья (Physical Component Score (PCS)) и психическому компоненту здоровья (Mental Component Score (MCS)). Кроме того, для оценки уровня депрессии использовалась гериатрическая шкала депрессии – Geriatric Depression Scale (GDS). Для оценки качества сна применялся опросник Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI) и, в частности, общий балл  $\geq 6$ , свидетельствующий о нарушениях сна [22].

Касательно приема алкоголя использовались следующие вопросы: текущее употребление алкоголя, тип выпитого алкоголя, количество (мл) выпитого за один день, причина приема алкоголя, партнер по употреблению алкоголя. Количество ЧА рассчитывалось для таких напитков, как пиво, самогон (недистиллированный алкогольный напиток), вино, виски, портвейн, водка, бренди и др. На основе этих данных количество дневного потребления алкоголя в граммах анализировалось по количеству алкоголя в каждом напитке. Поскольку количество ЧА, содержащегося в одном и том же количестве миллилитров алкогольного напитка, варьирует в зависимости от типа алкогольного напитка, для перевода количества потребленного алкоголя в количество ЧА использовалась следующая формула

$$\text{Чистый алкоголь (г)} = \text{Спиртное (мл)} \times \text{Содержание алкоголя (\%)/100} \times 0,8,$$

где 0.8 – удельный вес этанола (г/мл).

dence during the study period in Vladivostok and Primorsky Krai, Novosibirsk and the Novosibirsk Region, and the ability to fill out the questionnaire on their own. The respondents were non heavy drinkers and had no history of alcohol addiction. A sample of 428 elderly Russian people was necessary to accurately determine the significance level of 5 and 10% [21].

The main parameters that characterized the respondents were: age, gender, body mass index (BMI), medical treatment, residence status, work status, physical activity for the period of our study. To assess the quality of life, the Short Form-8 Health Survey (SF-8) was used: the sum of points for the physical component of health (Physical Component Score (PCS)) and mental component of health (Mental Component Score (MCS)) was determined. In addition, the Geriatric Depression Scale (GDS) was used to assess the level of depression. The Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI) was used to assess sleep quality, and, in particular, a total score of  $\geq 6$ , indicating sleep disorders [22].

Regarding alcohol intake, the following questions were used: current alcohol consumption, type of alcohol, amount (ml) drunk per day, reason for drinking, drinking partner. The amount of PA was calculated for drinks such as beer, moonshine (undistilled alcoholic beverage or samogon), wine, whiskey, port wine, vodka, brandy, etc. Based on these data, the amount of daily alcohol consumption in grams was analyzed by the amount of alcohol in each drink. Since the amount of PA contained in the same amount of milliliters of an alcoholic beverage varies depending on the type of the latter, the following formula was used to convert the amount of alcohol consumed to the amount of PA

$$\text{Pure alcohol (g)} = \text{Alcohol (ml)} \times \text{Alcohol content (\%)/100} \times 0,8,$$

where 0.8 – specific gravity of ethanol (g/ml).

The ethanol content, depending on the type of alcohol, was taken as follows: beer – 5%, moonshine – 50%, wine – 12.5%, whiskey – 43%, port wine – 20%, vodka – 40%, brandy – 40% [6, 23]. For example, 500 ml of drunk beer equaled 20 g of PA.

The analysis included drinking and non-drinking participants, then, after excluding the drinking participants who did not report the daily amount of alcohol consumed, a two-group analysis was conducted regarding the amount of PA (20 g/day) recommended for the Japanese population by the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan [6]. Shapiro-Wilk test, Mann-Whitney *U*-test, *t*-test (unpaired),  $\chi^2$  test, and logistic regression analysis

Содержание этанола в зависимости от типа спиртного принималось следующим: пиво – 5 %, самогон – 50 %, вино – 12.5 %, виски – 43 %, портвейн – 20 %, водка – 40 %, бренди – 40 % [6, 23]. Например, 500 мл выпитого пива равнялись 20 г ЧА.

Предметом анализа были пьющие и непьющие участники, затем, после исключения пьющих участников, которые не указали ежедневное количество потребляемого алкоголя, был проведен анализ между двумя группами относительно количества ЧА (20 г/день), рекомендуемого для японского населения Министерством здравоохранения, труда и благосостояния Японии [6]. Тест Шапиро – Уилка, *U*-тест Манна – Уитни, *t*-тест (непарный), тест  $\chi^2$  и логистический регрессионный анализ проводились с помощью пакета программ SPSS Statistics 24. Для проверки нормальности использовался тест Шапиро – Уилка. Для непрерывных переменных проводился *t*-тест (непарный) и *U*-тест Манна – Уитни. Для показателей, соответствующих нормальности, использовался *t*-тест (непарный), а *U*-тест Манна – Уитни – для показателей, не соответствующих нормальности. Для категориальной переменной использовался тест  $\chi^2$ . Уровень статистической значимости был менее 5 %. Для выявления факторов, связанных с потреблением алкоголя, был проведен логистический регрессионный анализ с количеством потребляемого ЧА в качестве зависимой переменной. Критериями отбора независимых переменных были факторы, по которым наблюдалась статистическая значимость между двумя группами, а для последнего анализа выборка была стратифицирована по полу.

От респондентов было получено письменное согласие, а комитет по медицинской этике Университета Цукубы одобрил данное исследование N 1307.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего в исследовании приняли участие 770 респондентов, из которых 430 употребляли алкоголь. После исключения 6 (1 %) пьющих участников дальнейший анализ относительно потребления ЧА 20 г/день был проведен среди 424 пьющих участников.

В табл. 1 представлены характеристики непьющих и пьющих участников. Возраст участников непьющей группы (среднее  $\pm$  квадратичное отклонение) составил  $73.0 \pm 7.0$  года, ИМТ –  $27.0 \pm 4.5$ , гендерное распределение – 91 мужчина (26.3 %), 255 женщин (73.7 %). Участники, употребляющие алкоголь, были моложе:

were performed using the SPSS Statistics 24 software package. Shapiro-Wilk test was used to test for normality. For continuous variables, the *t*-test (unpaired) and the Mann-Whitney *U*-test were performed. The *t*-test (unpaired) was used for normal data and the Mann-Whitney *U*-test was used for non-normal ones. For the categorical variable, the  $\chi^2$  test was used. The level of statistical significance was less than 5%. To identify factors associated with alcohol consumption, a logistic regression analysis was performed with the amount of PA consumed as the dependent variable. The selection criteria for independent variables were factors for which there was statistical significance between the two groups, and for the final analysis, the sample was stratified by gender.

Written consent was obtained from the respondents, and the Medical Ethics Committee of the University of Tsukuba approved this study No. 1307.

## RESULTS

A total of 770 respondents took part in the study, of which 430 consumed alcohol. After exclusion of 6 (1%) drinkers, further analysis with a cutoff a 20 g/day PA intake was conducted among 424 drinkers.

Table 1 presents the characteristics of non-drinking and drinking participants. The age of participants in the non-drinking group (mean  $\pm$  standard deviation) was  $73.0 \pm 7.0$  years, BMI –  $27.0 \pm 4.5$ , gender distribution – 91 men (26.3%), 255 women (73.7%). Participants who drink alcohol were younger:  $70.2 \pm 5.1$  years ( $p = .001$ ), they were almost equally distributed by gender – 215 men (50.7%) and 209 women (49.3%) ( $p = .001$ ), and had an overall greater a high BMI of  $28.2 \pm 5.5$  ( $p = .006$ ). Among the SF-8 scores, PCS score was significantly lower in non-drinkers than drinkers, at  $35.1 \pm 8.1$  and  $40.1 \pm 8.8$ , respectively ( $p = .001$ ). Hypertension prevailed among non-drinking respondents – 240 (69.4%) people ( $p = .001$ ), as well as cardiovascular diseases – 195 (56.4%) people ( $p = .001$ ). The GDS score was significantly higher in non-drinking participants,  $4.7 \pm 2.9$ , compared to  $3.9 \pm 3.3$  in drinking participants ( $p = .001$ ). Fewer members of the non-drinking group worked – 24 (6.9%), compared to 58 (13.7%) drinkers ( $p = .003$ ). Similarly, as a daily routine, 11 (3.2%) non-drinking respondents played sports, compared with 41 (9.7%) of the drinking group ( $p = .001$ ). In terms of sleep characteristics, non-drinkers showed a lower prevalence of sleep disturbances at 185 (53.5%) compared to 269 (63.4%) in the drinking group ( $p = .005$ ).

**Таблица 1.** Характеристики непьющих и пьющих участников  
**Table 1.** Characteristics of non-drinking and drinking participants

Показатель / Parameter	Всего Total (n = 770)	Непьющие Non-drinking (n = 346)	Пьющие Drinking (n = 424)	p
Возраст (лет) / Age (years)	71.4 ± 6.2	73.0 ± 7.0	70.2 ± 5.1	.001*
Пол / Gender:				
мужской / male	306	91	215	.001**
женский / female	464	255	209	
ИМТ / BMI	27.6 ± 5.1	27.0 ± 4.5	28.2 ± 5.5	.006*
GDS	4.3 ± 3.1	4.7 ± 2.9	3.9 ± 3.3	.001*
SF-8:				
PCS	37.9 ± 8.8	35.1 ± 8.1	40.1 ± 8.8	.001*
MCS	47.1 ± 7.1	47.1 ± 7.0	47.2 ± 7.2	.910†
PSQI	6.9 ± 3.6	6.9 ± 3.9	6.9 ± 3.4	.262
Нарушения сна / Sleep disorders (PSQI ≥ 6):				
да / yes	454	185	269	.005**
нет / no	316	161	155	
Гипертония / Hypertension:				
да / yes	487	240	247	.001**
нет / no	283	106	177	
Диабет / Diabetes:				
да / yes	117	62	55	.057*
нет / no	653	284	369	
Сердечно-сосудистые заболевания Cardiovascular diseases:				
да / yes	370	195	175	.001**
нет / no	400	151	249	
Проживание в одиночестве / Living alone:				
да / yes	212	89	123	.310*
нет / no	558	257	301	
Работа / Job:				
да / yes	82	24	58	.003**
нет / no	688	322	366	
Физические упражнения / спортзал Physical exercise / gym:				
да / yes	52	11	41	.001**
нет / no	718	335	383	
Количество разговоров в день Number of conversations per day:				
0	112	41	71	.310*
1	132	62	70	
2	127	59	68	
3	95	48	47	
4	102	41	61	
5 и более / and more	202	95	107	

П р и м е ч а н и я : \*p < 0.01 среднее ± квадратичное отклонение; • по критерию χ<sup>2</sup>; \* p < 0.05; † U-критерий Манна – Уитни. Значения для показателей Возраст, ИМТ, GDS, SF-8, PSQI даны в виде среднее ± квадратичное отклонение.

ИМТ – индекс массы тела; GDS – Geriatric Depression Scale; SF-8 – Short Form-8 Health Survey; PCS – сумма баллов по физическому компоненту здоровья, MCS – сумма баллов по психическому компоненту здоровья, PSQI – Pittsburgh Sleep Quality Index.

N o t e s : \*p < 0.01 mean ± standard deviation; • according to the χ<sup>2</sup> test; \* p < 0.05; † Mann-Whitney U-test. Values for parameters Age, BMI, GDS, SF-8, PSQI are given as mean ± standard deviation.

BMI – body mass index; GDS – Geriatric Depression Scale; SF-8 – Short Form-8 Health Survey; PCS – Physical Component score, MCS – Mental Component score, PSQI – Pittsburgh Sleep Quality Index.

70.2 ± 5.1 года ( $p = .001$ ); были почти одинаково распределены по полу – 215 мужчин (50.7 %) и 209 женщин (49.3 %) ( $p = .001$ ) и имели в целом более высокий показатель ИМТ 28.2 ± 5.5 ( $p = .006$ ). Среди оценок по SF-8 оценка по PCS была значительно ниже у непьющих участников, чем у пьющих, составив 35.1 ± 8.1 и 40.1 ± 8.8 балла соответственно ( $p = .001$ ). Гипертония преобладала у непьющих респондентов – 240 (69.4 %) чел. ( $p = .001$ ), как и сердечно-сосудистые заболевания – 195 (56.4 %) чел. ( $p = .001$ ). Показатель по GDS был значительно выше у непьющих участников – 4.7 ± 2.9, по сравнению с 3.9 ± 3.3 у пьющих участников ( $p = .001$ ). Меньше участников непьющей группы работали – 24 (6.9 %) по сравнению с 58 (13.7 %) пьющими ( $p = .003$ ). Аналогично в качестве ежедневной рутины 11 (3.2 %) респондентов непьющей группы занимались спортом, по сравнению с 41 (9.7 %) чел. в группе пьющих ( $p = .001$ ). Что касается характеристик сна, непьющие участники показали меньшую распространенность нарушений сна – 185 (53.5 %) чел., по сравнению с 269 (63.4 %) участниками пьющей группы ( $p = .005$ ).

В табл. 2 представлены общие характеристики пьющих участников относительно дневного потребления ЧА в количестве 20 г. Среди 424 участников 121 (28.5 %) чел. употреблял менее 20 г ЧА в день, а 303 (71.5 %) – более 20 г. Средний возраст тех, кто употреблял более 20 г ЧА в день, был ниже – 69.8 ± 4.9 года по сравнению с теми, кто употреблял менее 20 г – 71.2 ± 5.4 года ( $p = .013$ ). Среди участников группы с большим потреблением алкоголя преобладали мужчины – 174 (57.4 %), тогда как в группе с меньшим потреблением алкоголя – женщины (80 (66.1 %)), что показало статистически значимую разницу ( $p = .001$ ). Гипертония значительно преобладала среди участников, употреблявших более 20 г ( $p = .001$ ). Среди участников, употреблявших более 20 г ЧА в день, преобладали одинокие ( $p = .005$ ), работающие пожилые люди ( $p = .040$ ), которые чаще посещали спортзал ( $p = .038$ ) и имели большее количество разговоров в день ( $p = .022$ ). Не было обнаружено статистически значимых различий между теми, кто употреблял менее и более 20 г ЧА в день, ни по ИМТ, ни по показателям GDS. Что касается оценки качества жизни, то оценка PCS была выше у тех, кто употреблял менее 20 г/день – 40.3 ± 7.5, по сравнению с теми, кто употреблял более 20 г/день – 40.1 ± 9.3, не показав статистической значимости ( $p = .919$ ). Показатель MCS был выше среди тех, кто пил более 20 г/день –

Table 2 presents the general characteristics of drinking participants relative to the daily intake of PA in the amount of 20 g. Among 424 participants, 121 (28.5%) people consumed less than 20 g of PA per day, and 303 (71.5%) – more than 20 g. The average age of those who consumed more than 20 g of PA per day was lower – 69.8 ± 4.9 years compared with those who consumed less than 20 g – 71.2 ± 5.4 years ( $p = .013$ ). Among the participants in the group with more alcohol consumption, men predominated – 174 (57.4%), while in the group with less alcohol consumption – women (80 (66.1%)), which showed a statistically significant difference ( $p = .001$ ). Hypertension significantly predominated among participants who consumed more than 20 g ( $p = .001$ ). Participants who used to drink more than 20 g of PA per day were dominated by single ( $p = .005$ ), working elderly persons ( $p = .040$ ), who went to the gym more often ( $p = .038$ ) and had more conversations per day ( $p = .022$ ). No statistically significant differences were found between those who consumed less than and more than 20 g of PA per day, neither in BMI nor in GDS scores. In terms of quality of life, the PCS score was higher for those who consumed less than 20 g/day, 40.3 ± 7.5, compared to those who consumed more than 20 g/day, 40.1 ± 9.3, showing no statistical significance ( $p = .919$ ). The MCS score was higher among those who drank more than 20 g/day – 47.2 ± 7.4 compared to those who drank less than 20 g – 47.0 ± 7.0, also not showing statistical significance ( $p = .708$ ). As for sleep characteristics, sleep disorders predominated among participants in the higher alcohol consumption group (184 (43.4%) people) compared with 85 (20.0%) participants in the lower alcohol consumption group, which did not show statistical significance ( $p = .066$ ).

Table 3 shows the reasons for drinking alcohol and the presence/absence of a drinking partner in the groups of drinking respondents. Most participants drinking more than 20 g/day preferred to drink for stress relief ( $p = .001$ ), enjoyment of life ( $p = .001$ ), and better sleep ( $p = .001$ ). In terms of a drinking partner, 78 (18.4%) participants who consumed more than 20 g of PA per day drank alone ( $p = .001$ ), compared with 10 (2.4%) participants in the group who consumed less than 20 g per day. Moreover, 145 (34.2%) of those who consumed more than 20 g of PA per day drank alcohol with their families, compared with 34 (8.0%) of the less drinking group, showing a statistically significant difference ( $p = .001$ ).

Table 4 shows the results of a logistic regression analysis between two groups of drinking participants

**Таблица 2.** Общие характеристики пьющих участников относительно потребления 20 г/день чистого алкоголя ( $n = 424$ )**Table 2.** General characteristics of drinking participants with a cutoff of 20 g/day of pure alcohol ( $n = 424$ )

Показатель / Parameter	Дневное потребление алкоголя < 20 г Daily alcohol consumption < 20 g ( $n = 121$ )	Дневное потребление алкоголя $\geq 20$ г Daily alcohol consumption $\geq 20$ g ( $n = 303$ )	$P$
Возраст (лет) / Age (years)	71.2 $\pm$ 5.4	69.8 $\pm$ 4.9	.013*
Пол / Gender:			
мужской / male	41	174	.001**
женский / female	80	129	
ИМТ / BMI	28.4 $\pm$ 5.2	28.1 $\pm$ 5.6	.250
GDS	3.7 $\pm$ 3.1	4.0 $\pm$ 3.3	.620
SF-8:			
PCS	40.3 $\pm$ 7.5	40.1 $\pm$ 9.3	.919
MCS	47.0 $\pm$ 7.0	47.2 $\pm$ 7.4	.708†
PSQI	7.1 $\pm$ 3.0	6.9 $\pm$ 3.5	.329
Нарушения сна / Sleep disorders (PSQI $\geq 6$ ):			
да / yes	85	184	.066*
нет / no	36	119	
Гипертония / Hypertension:			
да / yes	91	156	.001**
нет / no	30	147	
Диабет / Diabetes:			
да / yes	16	39	.922*
нет / no	105	264	
Сердечно-сосудистые заболевания Cardiovascular diseases:			
да / yes	51	124	.817*
нет / no	70	179	
Проживание в одиночестве Living alone:			
да / yes	47	76	.005**
нет / no	74	76	
Работа / Job:			
да / yes	10	48	.040**
нет / no	111	255	
Физические упражнения / спортзал Physical exercise / gym:			
да / yes	6	35	.038**
нет / no	115	268	
Количество разговоров в день Number of conversations per day:			
0	13	41	.022**
1	22	50	
2	19	62	
3	16	25	
4	20	32	
5 и более / and more	56	70	

Примечания: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \* по критерию  $\chi^2$ ; †  $U$ -критерий Манна – Уитни.

Значения для показателей Возраст, ИМТ, GDS, SF-8, PSQI даны в виде среднее  $\pm$  квадратичное отклонение. ИМТ – индекс массы тела; GDS – Geriatric Depression Scale; SF-8 – Short Form-8 – Health Survey; PCS – сумма баллов по физическому компоненту здоровья, MCS – сумма баллов по психическому компоненту здоровья, PSQI – Pittsburgh Sleep Quality Index.

Notes: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \* according to the  $\chi^2$  test; † Mann-Whitney  $U$ -test.

Values for parameters Age, BMI, GDS, SF-8, PSQI are given as mean  $\pm$  standard deviation. BMI – body mass index; GDS – Geriatric Depression Scale; SF-8 – Short Form-8 – Health Survey; PCS – Physical Component score, MCS – Mental Component score, PSQI – Pittsburgh Sleep Quality Index.

**Таблица 3.** Причины употребления алкоголя и наличие/отсутствие партнера по употреблению в группах респондентов относительно количества 20 г ЧА в день ( $n = 424$ )**Table 3.** Reasons for drinking and presence/absence of a drinking partner in respondent groups with a cutoff of 20 g of PA per day ( $n = 424$ )

Показатель Parameter	Дневное потребление алкоголя < 20 г Daily alcohol consumption < 20 g ( $n = 121$ )	Дневное потребление алкоголя $\geq 20$ г Daily alcohol consumption $\geq 20$ g ( $n = 303$ )	$p$
<i>Причина употребления / Reasons for consumption</i>			
Снятие стресса / Stress reduction:			
да / yes	18	106	.001*
нет / no	103	197	
Получение удовольствия / Getting pleasure:			
да / yes	15	58	.097
нет/ no	106	245	
Наслаждение жизнью / Enjoyment of life:			
да / yes	7	60	.001*
нет/ no	114	243	
Общение / Communication:			
да / yes	2	7	.672
нет/ no	119	296	
За компанию / In a social setting:			
да / yes	66	141	.136
нет/ no	55	162	
Чтобы лучше спать / To sleep better:			
да / yes	2	34	.001*
нет/ no	119	269	
<i>Партнер / Partner</i>			
В одиночку / By oneself:			
да / yes	10	78	.001*
нет/ no	111	225	
В кругу семьи / In the family:			
да / yes	34	145	.001*
нет/ no	87	158	
С друзьями / With friends:			
да / yes	80	182	.088
нет/ no	41	121	

\*  $p < 0.01$  по критерию  $\chi^2$ . $p < 0.01$  according to the  $\chi^2$  test.

47.2  $\pm$  7.4 по сравнению с теми, кто пил менее 20 г – 47.0  $\pm$  7.0, также не показав статистической значимости ( $p = .708$ ). Что касается характеристик сна, то нарушения сна преобладали среди участников группы с более высоким уровнем потребления алкоголя (184 (43.4 %) чел.) по сравнению с 85 (20.0 %) участниками группы с более низким уровнем потребления алкоголя, что не показало статистической значимости ( $p = .066$ ).

В табл. 3 представлены причины употребления алкоголя и наличие/отсутствие партнера по употреблению алкоголя в группах пьющих

for a daily intake of 20 g of PA. The independent variables used for the logistic regression analysis were age, gender, hypertension, living alone, job, exercise/gym, number of conversations per day, reason for drinking – stress relief, enjoyment of life, sleep improvement; drinking partner – by oneself, in the family. The logistic regression analysis found a correlation between consumption of more than 20 g of PA with gender (OR = 0.582; 95% CI: 0.351–0.966), hypertension (OR = 0.384; 95% CI: 0.223–0.661), living alone (OR = 0.453; 95% CI: 0.256–0.803), the reason for alcohol consumption – stress

**Таблица 4.** Логистический регрессионный анализ дневного потребления 20 г алкоголя в исследуемой группе пожилых россиян (n = 424)

**Table 4.** Logistic regression analysis of a daily consumption of 20 g alcohol in the studied group of elderly Russians (n = 424)

Показатель Parameter	Отношение шансов Odds ratio	95% доверительный интервал 95% confidence interval		p
		LL	UL	
Возраст / Age	0.978	0.930	1.027	.372
Пол / Gender	0.582	0.351	0.966	.036*
Гипертония / Hypertension	0.384	0.223	0.661	.001**
Проживание в одиночестве Living alone	0.453	0.256	0.803	.007*
Работа / Job	1.652	0.716	3.812	.239
Физические упражнения / спортзал Physical exercise / gym	1.850	0.660	5.184	.242
Количество разговоров в день Number of conversations per day	1.035	0.904	1.185	.615
Причина употребления Reasons for consumption:				
снятие стресса / stress reduction	4.580	2.313	9.069	.001**
наслаждение жизнью / enjoyment of life	3.015	1.207	7.531	.018*
чтобы лучше спать / to sleep better	4.817	0.974	23.838	.054
Партнер / Partner:				
в одиночку / by oneself	2.480	1.079	5.703	.033*
в кругу семьи / in the family	2.586	1.506	4.439	.001**

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Тест Хосмера – Лемешоу  $p = .506$ , дискриминантная предсказательная ценность – 71.5 %, точка отсечения: дневное потребление алкоголя (г):  $< 20 = 0, \geq 20 = 1$ . LL – нижний предел, UL – верхний предел.

Обратное исключение (отношение правдоподобия): возраст, пол (мужской = 0, женский = 1); гипертония (нет = 0, да = 1); жизнь в одиночестве (нет = 0, да = 1); физические упражнения / спортзал (нет = 0, да = 1); работа (нет = 0, да = 1); причина употребления – снятие стресса (нет = 0, да = 1), наслаждение жизнью (нет = 0, да = 1), чтобы лучше спать (нет = 0, да = 1); партнер – в одиночку (нет = 0, да = 1), в кругу семьи (нет = 0, да = 1).

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Hosmer-Lemeshow test  $p = .506$ , discriminant predictive value – 71.5%, cutoff point: daily alcohol consumption (g):  $< 20 = 0, \geq 20 = 1$ . LL – lower limit, UL – upper limit.

Reverse exclusion (likelihood ratio): age, gender (male = 0, female = 1); hypertension (no = 0, yes = 1); living alone (no = 0, yes = 1); physical exercise/gym (no = 0, yes = 1); job (no = 0, yes = 1); the reason for use – stress reduction (no = 0, yes = 1), enjoyment of life (no = 0, yes = 1), to sleep better (no = 0, yes = 1); partner – alone (no = 0, yes = 1), in the family (no = 0, yes = 1).

респондентов. Большинство участников, пьющих более 20 г/день, предпочитали пить с целью снятия стресса ( $p = .001$ ), для наслаждения жизнью ( $p = .001$ ) и для лучшего сна ( $p = .001$ ). Что касается партнера по употреблению алкоголя, 78 (18.4 %) участников, употреблявших более 20 г ЧА в день, пили в одиночку ( $p = .001$ ), по сравнению с 10 (2.4 %) участниками из группы употреблявших менее 20 г в день. Более того, 145 (34.2 %) участников из тех, кто употреблял более 20 г ЧА в день, пили алкоголь в кругу семьи, по сравнению с 34 (8.0 %) участниками менее пьющей группы, что показало статистически значимую разницу ( $p = .001$ ).

В табл. 4 представлены результаты логистического регрессионного анализа между двумя группами пьющих участников относительно дневного приема 20 г ЧА. Независимыми переменными, использованными для логистического регресси-

reduction (OR = 4.580; 95% CI: 2.313–9.069), enjoyment of life (OR = 3.015; 95% CI: 1.207–7.531), alcohol drinking alone (OR = 2.480; 95% CI: 1.079–5.703) and in the family (OR = 2.586; 95% CI: 1.506–4.439).

Tables 5 and 6 there are results of the gender-based stratified analysis for men and women, respectively. Among men, alcohol consumption significantly correlated with hypertension (OR = 0.216; 95% CI: 0.090–0.521), alcohol consumption for stress reduction (OR = 2.530; 95% CI: 1.043–6.136), drinking alone (OR = 5.454; 95% CI: 1.699–17.510) and in the family (OR = 4.934; 95% CI: 2.003–12.154). In women, drinking was significantly correlated with living alone (OR = 0.455; 95% CI: 0.228–0.907), drinking for stress reduction (OR = 5.274; 95% CI: 2.092–13.299), and enjoyment of life (OR = 4.669; 95% CI: 1.218–17.899), alcohol consumption in the family (OR = 2.077; 95% CI: 1.069–4.033).

**Таблица 5.** Логистический регрессионный анализ дневного потребления 20 г алкоголя среди пожилых россиян, стратифицированный для мужчин ( $n = 424$ )**Table 5.** Logistic regression analysis of 20 g alcohol daily consumption among elderly Russians, stratified for men ( $n = 424$ )

Показатель Parameter	Отношение шансов Odds ratio	95% доверительный интервал 95% confidence interval		p
		LL	UL	
Гипертония / Hypertension	0.216	0.090	0.521	.001**
Работа / Job	5.229	0.644	42.469	.122
Причина употребления – снятие стресса Reasons for consumption – stress reduction	2.530	1.043	6.136	.040*
Партнер / Partner:				
в одиночку / by oneself	5.454	1.699	17.510	.004*
в кругу семьи / in the family	4.934	2.003	12.154	.001**

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Тест Хосмера – Лемешоу  $p = .085$ , дискриминантная предсказательная ценность – 80.9 %, точка отсечения: дневное потребление алкоголя (г):  $< 20 = 0$ ,  $\geq 20 = 1$ . LL – нижний предел, UL – верхний предел.

Обратное исключение (отношение правдоподобия): гипертония (нет = 0, да = 1); работа (нет = 0, да = 1); причина употребления – снятие стресса (нет = 0, да = 1); партнер – в одиночку (нет = 0, да = 1), в кругу семьи (нет = 0, да = 1).

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Hosmer-Lemeshow test  $p = .085$ , discriminant predictive value – 80.9%, cutoff point: daily alcohol consumption (g):  $< 20 = 0$ ,  $\geq 20 = 1$ . LL – lower limit, UL – upper limit.

Reverse exclusion (likelihood ratio): hypertension (no = 0, yes = 1); job (no = 0, yes = 1); the reason for the use – stress reduction (no = 0, yes = 1); partner – alone (no = 0, yes = 1), in the family (no = 0, yes = 1).

онного анализа, были возраст, пол, гипертония, проживание в одиночестве, работа, физические упражнения / спортзал, количество разговоров в день, причина употребления алкоголя – снятие стресса, наслаждение жизнью, чтобы лучше спать, партнер по употреблению алкоголя – в одиночку, в кругу семьи. В результате логистического регрессионного анализа была обнаружена корреляция между употреблением более 20 г ЧА и полом (ОШ = 0.582; 95% ДИ: 0.351–0.966), гипертонией (ОШ = 0.384; 95% ДИ: 0.223–0.661), проживанием в одиночестве (ОШ = 0.453; 95% ДИ: 0.256–0.803), причиной употребления алкоголя – снятие стресса (ОШ = 4.580; 95% ДИ: 2.313–9.069), наслаждение жизнью (ОШ = 3.015; 95% ДИ: 1.207–7.531), употреблением алкоголя в одиночку (ОШ = 2.480; 95% ДИ: 1.079–5.703) и в кругу семьи (ОШ = 2.586; 95% ДИ: 1.506–4.439).

В табл. 5 и 6 представлены результаты стратифицированного анализа на основе пола для мужчин и женщин соответственно. Среди мужчин употребление алкоголя значительно коррелировало с гипертонией (ОШ = 0.216; 95% ДИ: 0.090–0.521), употреблением алкоголя для снижения стресса (ОШ = 2.530; 95% ДИ: 1.043–6.136), употреблением алкоголя в одиночку (ОШ = 5.454; 95% ДИ: 1.699–17.510) и в кругу семьи (ОШ = 4.934; 95% ДИ: 2.003–12.154). У женщин употребление алкоголя значительно коррелировало с

## DISCUSSION

### Features of associations of quality of life and moderate alcohol consumption among elderly Russians

The drinking participants were younger than the non-drinking ones, mostly worked, exercised more often, had a higher PCS score, and a greater prevalence of sleep disorders. No statistical significance was found in any of the health-related indicators of quality of life between two groups of participants consuming less and more than 20 g/day of PA. The data obtained in the present study are consistent with previous results among elderly Japanese with a cutoff of 20 g/day [20]. However, statistical significance in quality of life was found among both drinkers and non-drinkers: a higher PCS score of 40.1 in the drinking group compared to 35.1 in the non-drinking group, indicating better physical health among drinking respondents.

A paradoxical relationship has already been reported between better physical health and alcohol consumption among Russians aged 18 and over [24]. With regard to moderate alcohol consumption, a study among Russian men of working age showed that complete abstinence from alcohol was associated with a lower PCS score compared to those who consumed from 10 l (28 g/day) to 19 l (52 g/day) per year, while no statistical significance was observed in

**Таблица 6.** Логистический регрессионный анализ дневного потребления 20 г алкоголя среди пожилых россиян, стратифицированный для женщин ( $n = 424$ )**Table 6.** Logistic regression analysis of 20 g alcohol daily consumption among elderly Russians, stratified for women ( $n = 424$ )

Показатель Parameter	Отношение шансов Odds ratio	95% доверительный интервал 95% confidence interval		p
		LL	UL	
Гипертония / Hypertension	0.532	0.270	1.050	.069
Проживание в одиночестве Living alone	0.455	0.228	0.907	.025*
Причина употребления Reasons for consumption:				
снятие стресса / stress reduction	5.274	2.092	13.299	.001**
наслаждение жизнью / enjoyment of life	4.669	1.218	17.899	.025*
Партнер / Partner:				
в одиночку / by oneself	2.562	0.860	7.635	.091
в кругу семьи / in the family	2.077	1.069	4.033	.031*

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Тест Хосмера – Лемешоу  $p = .345$ , дискриминантная предсказательная ценность – 61.7%, точка отсечения: дневное потребление алкоголя (г):  $< 20 = 0$ ,  $\geq 20 = 1$ . LL – нижний предел, UL – верхний предел.

Обратное исключение (отношение правдоподобия): гипертония (нет = 0, да = 1); проживание в одиночестве (нет = 0, да = 1); причина употребления – снятие стресса (нет = 0, да = 1); наслаждение жизнью (нет = 0, да = 1); партнер – в одиночку (нет = 0, да = 1), в кругу семьи (нет = 0, да = 1).

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . Hosmer-Lemeshow test  $p = .345$ , discriminant predictive value – 61.7%, cutoff point: daily alcohol consumption (g):  $< 20 = 0$ ,  $\geq 20 = 1$ . LL – lower limit, UL – upper limit.

Reverse exclusion (likelihood ratio): hypertension (no = 0, yes = 1); living alone (no = 0, yes = 1); the reason for use – stress reduction (no = 0, yes = 1), enjoyment of life (no = 0, yes = 1); partner – by oneself (no = 0, yes = 1), in the family (no = 0, yes = 1).

проживанием в одиночестве (ОШ = 0.455; 95% ДИ: 0.228–0.907), употреблением алкоголя для снижения стресса (ОШ = 5.274; 95% ДИ: 2.092–13.299) и наслаждения жизнью (ОШ = 4.669; 95% ДИ: 1.218–17.899), употреблением алкоголя в кругу семьи (ОШ = 2.077; 95% ДИ: 1.069–4.033).

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Особенности ассоциаций качества жизни и умеренного потребления алкоголя среди пожилых россиян

Пьющие участники были моложе непьющих, в основном работали, чаще занимались физическими упражнениями, имели более высокий балл PCS и большую распространенность нарушений сна. Статистической значимости не было обнаружено ни в одном из связанных со здоровьем показателей качества жизни между двумя группами участников, употреблявших менее и более 20 г/день ЧА. Полученные в настоящем исследовании данные соответствуют результатам нашего предыдущего исследования среди пожилых японцев относительно употребления 0 г/день [20]. Тем не менее статистическая значимость в качестве жизни была обнаружена среди пьющих и непьющих участников исследо-

the MCS measure [25]. In the current study among elderly Russians, no association was found between PCS and MCS scores and consumption of more or less than 20 g of PA per day, however PCS scores were higher in elderly drinkers compared to non-drinkers.

One of the reasons for this may be the peculiarity of countries where moderate alcohol consumption is not normative. In China, where moderate alcohol consumption is not widespread, abstainers have been shown to exhibit worse PCS values than drinkers [26]. However, in the United States, a country where moderate drinking is widespread, moderate drinkers had better health than abstainers [27]. Due to the fact that moderate drinking is not widespread in the Russian Federation, as in China, abstainers show worse PCS values than drinking older people. The reasons for this are unknown, but due to the lack of factors that stop high alcohol consumption in old age, physical illness may be one of the reasons for alcohol withdrawal [28], which may be a factor in the deterioration of physical health among non-drinking elderly people.

Although there are many studies supporting the health benefits of moderate alcohol consumption, alcohol should not be recommended to non-drinkers [29]. It is for this reason that this article focuses

вания: более высокий балл PCS – 40.1 в группе употреблявших алкоголь по сравнению с 35.1 в группе не употреблявших алкоголь, что свидетельствовало о лучшем физическом здоровье пьющих респондентов.

Уже сообщалось о существующей парадоксальной связи между лучшим физическим здоровьем и приемом алкоголя среди россиян в возрасте 18 лет и старше [24]. Что касается умеренного потребления алкоголя, то исследование среди российских мужчин трудоспособного возраста показало, что полное воздержание от алкоголя ассоциируется с более низким баллом по PCS по сравнению с теми, кто употреблял от 10 л (28 г/день) до 19 л (52 г/день) в год, при этом статистической значимости в оценке MCS не наблюдалось [25]. В текущем исследовании среди пожилых россиян не было обнаружено связи между оценками PCS и MCS и потреблением более или менее 20 г ЧА в день, однако оценка PCS была выше у пьющих пожилых людей по сравнению с непьющими.

Одной из причин этого может быть особенность стран, где умеренное потребление алкоголя не является нормативным. В Китае, где умеренное потребление алкоголя не является широко распространенным, было показано, что воздерживающиеся демонстрируют худшие значения PCS, чем пьющие люди [26]. Вместе с тем в США, стране, где умеренное употребление алкоголя широко распространено, умеренно пьющие имели лучшее здоровье, чем воздерживающиеся [27]. В связи с тем, что в Российской Федерации умеренное употребление алкоголя не получило широкого распространения, как и в Китае, воздерживающиеся демонстрируют худшие значения PCS, чем употребляющие алкоголь пожилые люди. Причины этого неизвестны, но из-за отсутствия факторов, останавливающих высокое потребление алкоголя в пожилом возрасте, физические заболевания могут быть одной из причин отказа от алкоголя [28], что может являться фактором ухудшения физического здоровья среди воздерживающихся пожилых людей.

Несмотря на то, что существует множество исследований, подтверждающих пользу для здоровья умеренного употребления алкоголя, алкоголь не следует рекомендовать непьющим людям [29]. Именно по этой причине в данной статье основное внимание уделяется пьющим людям и дневному потреблению ЧА среди пьющих пожилых людей. В настоящее время крайне важно развивать осведомленность в вопросах умеренного потребления алкоголя и распространять

on drinkers and daily intake of PA among elderly drinkers. Currently, it is critical to develop awareness of moderate alcohol consumption and spread information about the consequences of moderate PA consumption among elderly drinkers, as recommended by the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare [6]. Specific patterns in the characteristics of quality of life of elderly Russians require further research and emphasize the introduction of recommendations for daily moderate consumption of PA.

#### **Use of alcohol among the elderly as a sedative**

Elderly Russians who consumed more than 20 g/day of PA were 4.5 times more likely to report drinking alcohol to relieve stress and 3 times more likely to enjoy life compared to those who consumed less than 20 g/day. According to previous reports, elderly people often use alcohol as a self-medication for mental problems and to relieve stress [30]. In our previous study among elderly Russians living in Vladivostok and Primorsky Krai, alcohol consumption above 21 g/day was also associated with stress reduction [31]. The results of this study confirm the data of previous studies showing that alcohol is often used to relieve stress among elderly Russians. Elderly Russians consumed more than 20 g/day for stress reduction, however, no association was found in the prevalence of depression assessed by the GDS or MCS scores between the two groups. This suggests that elderly Russians misunderstand the doses of alcohol to achieve a sedative effect and abuse alcohol for this purpose.

Moreover, our previous results have shown a higher risk of social isolation among Japanese elderly who drink more than 20 g/day and enjoy life by drinking more alcohol per day [20]. Similarly, in this study, consumption of more than 20 g of PA per day among elderly Russians was 3 times more likely to be associated with enjoyment of life, while consumption of more than 20 g of PA per day was 2.5 times more common among elderly Russians who drink alone than among those who drink less than 20 g/day. Moreover, the logistic regression showed an association between older adults living alone and alcohol consumption less than 20 g/day, while drinking alone was more common among those who consumed more than 20 g/day. This suggests that, regardless of residence status, older adults who consumed more than 20 g of PA per day preferred to drink alone, which is in line with the findings of previous studies indicating an association of excessive

информацию о последствиях умеренного потребления ЧА среди пьющих пожилых людей, как рекомендовано японским Министерством здравоохранения, труда и благосостояния [6]. Специфические закономерности в характеристиках качества жизни пожилых россиян требуют дальнейших исследований и придают особое значение введению рекомендаций по дневному умеренному потреблению ЧА.

#### **Использование алкоголя среди пожилых людей в качестве седативного средства**

Пожилые россияне, употребляющие более 20 г/день ЧА, в 4.5 раза чаще указывали на употребление алкоголя в целях снятия стресса и в 3 раза чаще – получения удовольствия от жизни по сравнению с теми, кто употреблял менее 20 г/день. Согласно предыдущим отчетам, пожилые люди часто используют алкоголь в качестве самолечения при психических проблемах и для снятия стресса [30]. В нашем предыдущем исследовании среди пожилых россиян, проживающих в г. Владивостоке и Приморском крае, употребление алкоголя более 21 г/день также было связано со снятием стресса [31]. Результаты данного исследования подтверждают результаты предыдущих исследований, показывающих, что алкоголь часто используется для снятия стресса среди пожилых россиян. Пожилые россияне употребляли более 20 г/день с целью снятия стресса, однако не было обнаружено никакой связи в распространенности депрессии по GDS или оценках MCS между этими двумя группами. Это говорит о том, что пожилые россияне неправильно понимают дозы алкоголя для достижения седативного эффекта и злоупотребляют алкоголем в этих целях.

Более того, наши предыдущие результаты показали более высокий риск социальной изоляции среди японских пожилых людей, выпивающих более 20 г/день и получающих удовольствие от жизни за счет потребления большего количества алкоголя в день [20]. Аналогично в данном исследовании потребление более 20 г ЧА в день среди пожилых россиян было в 3 раза чаще связано с получением удовольствия от жизни, тогда как потребление более 20 г ЧА в день встречалось в 2.5 раза чаще среди пожилых россиян, пьющих в одиночку, чем среди тех, кто пьет менее 20 г/день. Более того, логистическая регрессия показала связь проживающих в одиночестве пожилых людей и употреблением алкоголя менее 20 г/день, тогда как употребление алкоголя в одиночку встречалось чаще в группе тех, кто употреблял более 20 г/день. Это говорит о

alcohol consumption with the risk of social isolation among older people [32].

The results of the present study show that the use of alcohol for sedation is often misunderstood by elderly Russians and leads to increased alcohol consumption and risk of social exclusion. The specifics of drinking to relieve stress should be taken into account in moderate drinking education and the implementation of moderate drinking policies among older people.

#### **Social factors associated with excessive alcohol consumption among elderly Russians**

The obtained data show that elderly Russians who consume more than 20 g of PA per day, compared with those who consume less, are 2.5 times more likely to drink in the family, while the majority of female drinkers drink less than 20 g/day, and most drinking men – more than 20 g/day. Previous studies on family alcohol consumption among older adults have shown higher alcohol consumption among drinking spouses compared to non-drinkers, as well as gender differences in alcohol use, with women drinking more alcohol to support their spouses' drinking attitudes [33]. In terms of moderate alcohol consumption, only one study was found on household alcohol consumption among older adults. C. Reczek et al. suggested that excessive drinking by the husband contributes to an increase in alcohol consumption by the wife, however, moderate consumption by the wife, on the contrary, effects a decrease in the consumption of alcohol by the husband over time [34]. In our study, PA consumption of less than 20 g/day was associated with gender, indicating that most women consumed less alcohol than men, while men consumed more than 20 g/day and drank frequently in the family. According to [34], higher alcohol consumption in the family by men may influence women's attitudes towards alcohol, and this may be one of the reasons why participants consuming less than 20 g/day suffer from hypertension. Given the greater social control and binary influence of both spouses on each other in old age [35], it is important to take into account the nature of family relationships in relation to alcohol consumption. Alcohol withdrawal or reducing the amount of alcohol consumed by one spouse was positively correlated with a decrease in the amount of alcohol consumed per week by the other spouse [36]. This needs to be taken into account in families of older people, with particular attention to women, in order to spread information about moderate daily alcohol con-

том, что вне зависимости от статуса проживания пожилые люди, употреблявшие более 20 г ЧА в день, предпочитали пить в одиночку, что соответствует результатам предыдущих исследований, указывающих на связь чрезмерного употребления алкоголя с риском социальной изоляции среди пожилых людей [32].

Результаты настоящего исследования показывают, что использование алкоголя в целях достижения седативного эффекта часто неправильно понимается пожилыми россиянами и приводит к увеличению потребления алкоголя и рискам социальной изоляции. Особенности употребления алкоголя с целью снятия стресса необходимо учитывать в ходе просветительской работы по умеренному потреблению алкоголя и реализации политики умеренного потребления алкоголя среди пожилых людей.

### **Социальные факторы, связанные с чрезмерным употреблением алкоголя среди пожилых россиян**

Полученные результаты показывают, что пожилые россияне, потребляющие более 20 г ЧА в день, по сравнению с теми, кто потребляет меньше, в 2.5 раза чаще предпочитают пить в кругу семьи, при этом большинство пьющих женщин выпивают менее 20 г/день, а большинство пьющих мужчин – более 20 г/день. Предыдущие исследования о потреблении алкоголя в семье среди пожилых людей показали более высокое потребление алкоголя среди пьющих супругов по сравнению с непьющими, а также гендерные различия в употреблении алкоголя, когда женщины употребляют больше алкоголя, чтобы поддержать отношение к алкоголю своих супругов [33]. Если говорить об умеренном потреблении алкоголя, то было найдено только одно исследование, посвященное потреблению алкоголя в семье пожилыми людьми. С. Reczek et al. предположили, что чрезмерное употребление алкоголя мужем способствует увеличению потребления алкоголя женой, однако умеренное употребление алкоголя женой, наоборот, влияет на снижение потребления алкоголя мужем с течением времени [34]. В нашем исследовании наблюдалась связь употребления ЧА менее 20 г/день с полом, что свидетельствует о том, что большинство женщин потребляют меньше алкоголя, чем мужчины, тогда как мужчины потребляли более 20 г/день и часто выпивали в семье. Согласно [34], большее потребление алкоголя в семье мужчинами может влиять на отношение женщин к алкоголю, и это может быть одной из причин

sumption – less than 20 g. Although gender differences and family characteristics in alcohol consumption were not considered in this study, higher alcohol consumption was found in the family, which makes it important to educate about moderate alcohol consumption in the families of older people.

### **Association between daily intake of 20 g PA and hypertension**

Participants consuming more than 20 g of PA per day were less likely to develop hypertension (OR = 0.384; 95% CI: 0.223–0.661). This correlates with previous studies showing an association between moderate alcohol consumption and the prevalence of systemic hypertension [37]. However, it is important to consider the fact that the majority of study participants consuming less than 20 g/day were women (OR = 0.582; 95% CI: 0.351–0.966) living alone (OR = 0.453; 95% CI: 0.256–0.803). P. Lloyd-Sherlock et al. and H. Matsuda et al. indicate the prevalence of hypertension among single elderly women [38, 39]. This may be another reason that less alcohol consumption is associated with the prevalence of hypertension. Since the effect of alcohol consumption on arterial stiffness, especially in the elderly, has a J-shaped association and specific gender differences [5], there is insufficient evidence of a positive effect of daily alcohol consumption of more than 20 g per day on hypertension. J-shaped associations in alcohol consumption and hypertension [3, 4] indicate the need to introduce other norms for daily alcohol consumption in future studies and to continue investigating the effect of moderate alcohol consumption on hypertension among elderly Russians.

### **Applicability of the Japanese model**

Despite the attempt to apply the Japanese model of moderate alcohol consumption to elderly Russian people in this study, the daily PA consumption of more or less than 20 g of PA per day did not show significant differences among respondents. The moderate PA consumption recommended for the Japanese population was lower than the median of 21 g/day intake presented in our study carried out in Vladivostok and Primorsky Region [31], and lower than the median of 32 g/day consumption presented in our study conducted in the Novosibirsk Region [40].

The relatively low alcohol level in the recommended daily PA intake for the Japanese population, may be due to their racial origin. Representatives of

того, что участники, потребляющие менее 20 г/день, страдают гипертонией. Учитывая больший социальный контроль и бинарное влияние обоих супругов друг на друга в пожилом возрасте [35], важно принимать во внимание характер семейных отношений в связи с потреблением алкоголя. Прекращение употребления алкоголя или снижение количества выпитого одним из супругов положительно коррелировало со снижением количества выпитого в неделю другим супругом [36]. Это необходимо учитывать в семьях пожилых людей, уделяя особое внимание женщинам, чтобы распространять информацию об умеренном дневном потреблении алкоголя – менее 20 г. Несмотря на то, что гендерные различия и семейные характеристики в потреблении алкоголя не рассматривались в данном исследовании, было выявлено более высокое потребление алкоголя в кругу семьи, что придает важность просвещению в области умеренного потребления алкоголя в семьях пожилых людей.

#### **Связь ежедневного потребления ЧА в количестве 20 г с гипертонией**

Участники, употребляющие более 20 г ЧА в день, имели более низкую вероятность развития гипертонии (ОШ = 0.384; 95% ДИ: 0.223–0.661). Это коррелирует с предыдущими исследованиями, показавшими связь умеренного потребления алкоголя с распространенностью системной гипертонии [37]. Однако важно учитывать тот факт, что большинство участников исследования, употребляющих менее 20 г/день, были женщинами (ОШ = 0.582; 95% ДИ: 0.351–0.966), проживавшими в одиночестве (ОШ = 0.453; 95% ДИ: 0.256–0.803). Исследования Р. Lloyd-Sherlock et al. и Н. Matsuda et al. свидетельствуют о распространенности гипертонии среди одиноких пожилых женщин [38, 39]. Это может быть еще одной причиной того, что меньшее потребление алкоголя связано с распространенностью гипертонии. В связи с тем, что влияние потребления алкоголя на жесткость артерий, особенно у пожилых людей, имеет J-образную связь и специфические гендерные различия [5], нет достаточных доказательств положительного влияния дневного потребления алкоголя более 20 г в день на гипертонию. J-образные ассоциации в потреблении алкоголя и гипертонии [3, 4] указывают на необходимость введения других норм ежедневного потребления алкоголя в будущих исследованиях и продолжения изучения влияния умеренного потребления алкоголя на гипертонию среди пожилых россиян.

Mongoloid race have low activity of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2), a protein involved in the elimination of alcohol from the body, and therefore are not able to consume a lot of alcohol [41]. It is likely that the recommendations for appropriate daily moderate consumption of PA may vary depending on this fact. Although there is no official report on the racial composition of the population of the studied regions in the Russian Federation, different regions showed different amounts of daily PA consumption.

Yet, the Japanese model may be suitable for the city of Vladivostok and Primorsky Krai of Russia, which is located closer to Asia and shows a lower amount of PA consumption per day. However, taking into account our previous studies in certain regions of the country, showing different norms for alcohol consumption [31, 40], the introduction of the recommended moderate amount of PA consumption at the federal level does not seem possible at the moment. In the case of a multi-ethnic country such as the Russian Federation, the introduction of reference of a moderate alcohol consumption suitable for all Russian citizens is an issue requiring further study.

#### **Study limitations**

1. Obstructive sleep apnea syndrome was not taken into account in this study. The drinking participants were dominated by younger males with higher BMI. Among Russian men, alcohol consumption and elevated BMI were associated with a higher risk of obstructive sleep apnea syndrome [42]. Obstructive sleep apnea syndrome is widespread (41%) among elderly Russians with a BMI above 28 [43]. This fact correlates with the results of the present study, according to which the BMI was 28.2 among the drinkers, and showed statistical significance for the drinking and non-drinking groups ( $p = .006$ ). This may also be the reason why statistical significance of sleep disorders between the drinkers and non-drinkers was found ( $p = .005$ ). Further study of the prevalence of obstructive sleep apnea syndrome and its association with moderate alcohol consumption among elderly Russian people is needed.

2. This is a cross-sectional study, and the cause-effect relations between moderate alcohol consumption and the presence of medical conditions is not clear. It is difficult to ascertain whether the participants already had hypertension at the time of the study and intentionally abstained from alcohol,

### Применимость японской модели

Несмотря на попытку применить японскую модель умеренного потребления алкоголя к пожилым россиянам в данном исследовании, дневное потребление ЧА в группах употреблявших больше и меньше 20 г не показало существенных различий. Умеренное потребление ЧА, рекомендованное для японского населения, оказалось ниже, чем медиана 21 г/день, представленная в нашем исследовании, проведенном в г. Владивостоке и Приморском крае [31], и ниже, чем медиана 32 г/день, представленная в нашем исследовании, проведенном в Новосибирской области [40].

Относительно низкий уровень алкоголя в рекомендациях по потреблению ЧА в день для японского населения может быть обусловлен расовой принадлежностью японского населения. Представители монголоидной расы имеют низкую активность альдегиддегидрогеназы 2 (ALDH2) – белка, участвующего в выведении алкоголя из организма, поэтому и не способны потреблять много алкоголя в целом [41]. Вполне вероятно, что рекомендации по соответствующему дневному умеренному употреблению ЧА могут меняться в зависимости от этого факта. Хотя официального отчета о расовом составе населения исследуемых регионов в Российской Федерации нет, разные регионы показали разное количество дневного потребления ЧА.

Тем не менее японская модель может подойти для г. Владивостока и Приморского края России, расположенного ближе к Азии и демонстрирующего меньшее количество дневного потребления ЧА в день. Однако, принимая во внимание наши предыдущие исследования в отдельных регионах страны, показывающие разные нормы употребления алкоголя [31, 40], введение рекомендованного умеренного объема употребления ЧА на федеральном уровне на данный момент не представляется возможным. В случае такой полиэтнической страны, как Российская Федерация, введение нормы умеренного потребления алкоголя, подходящего для всех граждан России, является вопросом, требующим дальнейшего изучения.

### Ограничения исследования

1. Синдром обструктивного апноэ сна не был принят во внимание в данном исследовании. Среди употреблявших алкоголь участников преобладали более молодые мужчины с более высоким показателем ИМТ. Среди российских мужчин употребление алкоголя и повышенный ИМТ

or whether higher levels of alcohol consumption contributed to improved cardiovascular performance. Given the previously shown positive effect of moderate alcohol intake on the course of coronary heart disease [44] and cardiovascular pathology [45, 46], the association of PA consumption above 20 g/day and hypertension requires further study.

### CONCLUSION

To improve health and increase life expectancy of elderly Russians, the moderate alcohol consumption is crucial. However, a study in reference to the amount of daily alcohol consumption recommended by the Japanese health system, applied to elderly Russians, did not reveal a significant difference in the health characteristics of elderly people. As a result of the study, we found that:

1. There were no differences in the assessment of quality of life and physical factors in elderly Russians who consumed more or less than 20 g of PA per day, which suggests the need to introduce other reference values for moderate alcohol consumption.

2. Excessive alcohol consumption has occurred among elderly Russians who drink alone and to relieve stress, which indicates the risk of social isolation, misunderstanding of alcohol doses for sedation, and need for education in this group on moderate alcohol consumption.

3. Alcohol consumption in the family may lead to higher daily alcohol consumption among elderly Russians. Gender differences in household intake of 20 g PA per day should be taken into account, especially among women, and need to be explored in further studies.

4. Consumption more than 20 g of PA is not a treatment for hypertension, and further scientific-based evidence of an association between moderate alcohol consumption and hypertension among elderly Russians is needed.

**Acknowledgement.** The team of authors expresses their sincere gratitude to the elderly people living in Novosibirsk and the Novosibirsk Region, Vladivostok and Primorsky Krai, as well as to all the staff of the Novosibirsk State Medical University, the Pacific State Medical University and the University of Tsukuba for their support of this study.

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

ассоциировались с более высоким риском развития синдрома обструктивного апноэ сна [42]. Синдром обструктивного апноэ сна широко распространен (41 %) среди пожилых россиян с ИМТ выше 28 [43]. Этот факт коррелирует с результатами настоящего исследования, согласно которым ИМТ составил 28.2 среди пьющих участников и показал статистическую значимость для употреблявших и не употреблявших алкоголь групп ( $p = .006$ ). Это также может быть причиной того, что статистическая значимость расстройства сна была обнаружена между пьющими и непьющими пожилыми людьми ( $p = .005$ ). Необходимо дальнейшее изучение распространенности синдрома обструктивного апноэ сна и его связи с умеренным потреблением алкоголя среди пожилых россиян.

2. Это кросс-секционное исследование, и причинно-следственная связь между умеренным потреблением алкоголя и наличием заболеваний не ясна. Трудно установить, была ли у участников уже гипертония на момент исследования и они намеренно воздерживались от приема алкоголя или же более высокий уровень потребления алкоголя способствовал улучшению работы сердечно-сосудистой системы. Учитывая ранее показанное положительное влияние умеренного приема алкоголя на течение ишемической болезни сердца [44] и сердечно-сосудистых заболеваний [45, 46], связь употребления ЧА более 20 г/день и гипертонии требует дальнейшего изучения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для улучшения здоровья и увеличения продолжительности жизни пожилых россиян крайне важно умеренное потребление алкоголя. Тем не менее исследование относительно количества ежедневного употребления алкоголя, рекомендованного японской системой здравоохранения, в применении к пожилым россиянам не выявило

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Organization. Global Health Observatory data repository 2016. URL: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.GISAH?lang=en> (дата обращения: 11.03.2022).
2. St-Onge M.P., Gallagher D. Body composition changes with aging: The cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? // *Nutrition*. 2010;26(2):152–155. DOI: 10.1016/j.nut.2009.07.004.
3. Nakanishi N., Makino K., Nishina K., Suzuki K., Tatara K. Relationship of light to moderate alcohol consumption and risk of hypertension in Japanese male office workers // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002;26(7):988–994.

существенной разницы в характеристиках здоровья пожилых людей. В результате проведенного исследования мы установили, что:

1. Не было различий в оценке качества жизни и физических факторов у пожилых россиян, употреблявших больше или меньше 20 г ЧА в день, что говорит о необходимости введения других норм умеренного потребления алкоголя.

2. Чрезмерное потребление алкоголя имело место среди пожилых россиян, пьющих в одиночестве и для снятия стресса, что указывает на риск социальной изоляции, неправильное понимание доз алкоголя для достижения седативного эффекта и необходимость просветительской работы в этой группе по умеренному потреблению алкоголя.

3. Употребление алкоголя в семье может привести к более высокому дневному потреблению алкоголя среди пожилых россиян. Гендерные различия в потреблении 20 г ЧА в день в семьях должны быть учтены, особенно среди женщин, и требуют изучения в дальнейших исследованиях.

4. Употребление ЧА в количестве более 20 г не является способом лечения гипертонии, и необходимы дальнейшие научно обоснованные доказательства связи между умеренным потреблением алкоголя и гипертонией среди пожилых россиян.

**Благодарности.** Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность пожилым людям, проживающим в Новосибирске и Новосибирской области, Владивостоке и Приморском крае, а также всем сотрудникам Новосибирского государственного медицинского университета, Тихоокеанского государственного медицинского университета и Университета Цукубы за поддержку данного исследования.

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

## REFERENCES

1. World Health Organization. Global Health Observatory data repository 2016. URL: <https://apps.who.int/gho/data/node.main.GISAH?lang=en> (accessed 11.03.2022).
2. St-Onge M.P., Gallagher D. Body composition changes with aging: The cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition*. 2010;26(2):152–155. DOI: 10.1016/j.nut.2009.07.004.
3. Nakanishi N., Makino K., Nishina K., Suzuki K., Tatara K. Relationship of light to moderate alcohol consumption and risk of hypertension in Japanese male office workers. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002;26(7):988–994.

4. Ohmori S., Kiyohara Y., Kato I. et al. Alcohol intake and future incidence of hypertension in a general Japanese population: the Hisayama study // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002;26(7):1010–1016.
5. Sasaki S., Yoshioka E., Saijo Y. et al. Relation between alcohol consumption and arterial stiffness: A cross-sectional study of middle-aged Japanese women and men // *Alcohol.* 2013;47(8):643–649. DOI: 10.1016/j.alcohol.2013.10.003.
6. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare. 2008. URL: [https://www.mhlw.go.jp/www1/topics/kenko21\\_11/b5.html#A57](https://www.mhlw.go.jp/www1/topics/kenko21_11/b5.html#A57) (дата обращения: 11.03.2022). (In Japanese)
7. International Organisation of Vine and Wine. 2019. URL: <https://www.oiv.int/public/medias/7169/oiv-report-alcohol-drinking-guidelines-collective-expertise.pdf> (дата обращения: 11.03.2022).
8. Public Health Department Ministry of Labor, Health and Social Affairs. World Health Organization 2005. URL: <http://www.fao.org/3/a-as682e.pdf> (дата обращения: 14.03.2022).
9. Croatian National Institute of Public Health. 2015. URL: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/hzjz-PIJENJE-2-web.pdf> (дата обращения: 11.03.2022).
10. Institute for Public Health of Bosnia and Herzegovina. 2004. URL: <http://www.fao.org/3/a-as669o.pdf> (дата обращения: 11.03.2022). (In Bosnian)
11. Albanian Ministry of Health and the Institute of Public Health. 2008. URL: <http://www.fao.org/nutrition/education-nutritionnelle/food-dietary-guidelines/regions/albania/fr/> (дата обращения: 11.03.2022).
12. Institute of Public Health of Slovenia. 2014. URL: <https://www.nijz.si/sl/tvegano-pitje-alkohola> (дата обращения: 11.03.2022). (In Slovenian)
13. National Institute for Health and Welfare of Finland. 2016. URL: [http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/129668/TT\\_Alkoholiriskit\\_PAINO.pdf?sequence=1](http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/129668/TT_Alkoholiriskit_PAINO.pdf?sequence=1) (дата обращения: 11.03.2022). (In Finnish)
14. Directorate of Health, Norwegian Guidelines on Diet. 2016. URL: <https://www.helsedirektoratet.no/faglige-rad/kostradene-og-naeringsstoffer/inntak-av-naeringsstoffer/alkohol> (дата обращения: 11.03.2022). (In Norwegian)
15. Federal Alcohol Commission of Switzerland. 2018. URL: <https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/npp/alkohol/ekal/orientierungshilfe-alkoholkonsum.pdf.download.pdf/2-d-2015-orientierungshilfe-langversion.pdf> (дата обращения: 11.03.2022). (In German)
16. Ministry of Health of Luxembourg. 2018. URL: <https://sante.public.lu/fr/prevention/alcool/index.html> (accessed 11.03.2022). (In French)
17. Public Health France and National Cancer Institute. 2017. URL: <https://www.alcool-info-service.fr/alcool/consequences-alcool/consommation-a-risque#.WRI-OQfnvRZ> (дата обращения: 11.03.2022). (In French)
18. National Health and Medical Research Council of Australia. 2009. URL: <https://www.nhmrc.gov.au/file/1641/download?token=1O3AafPu> (дата обращения: 11.03.2022).
19. Ministry of Health of Singapore. 2019. URL: <https://www.healthhub.sg/live-healthy/920/alkohol-and->
4. Ohmori S., Kiyohara Y., Kato I. et al. Alcohol intake and future incidence of hypertension in a general Japanese population: the Hisayama study. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002;26(7):1010–1016.
5. Sasaki S., Yoshioka E., Saijo Y. et al. Relation between alcohol consumption and arterial stiffness: A cross-sectional study of middle-aged Japanese women and men. *Alcohol.* 2013;47(8):643–649. DOI: 10.1016/j.alcohol.2013.10.003.
6. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare (2008). URL: [https://www.mhlw.go.jp/www1/topics/kenko21\\_11/b5.html#A57](https://www.mhlw.go.jp/www1/topics/kenko21_11/b5.html#A57) (accessed 11.03.2022). (In Japanese)
7. International Organisation of Vine and Wine (2019). URL: <https://www.oiv.int/public/medias/7169/oiv-report-alcohol-drinking-guidelines-collective-expertise.pdf> (accessed 11.03.2022).
8. Public Health Department Ministry of Labor, Health and Social Affairs (2005). World Health Organization 2005. URL: <http://www.fao.org/3/a-as682e.pdf> (accessed 14.03.2022).
9. Croatian National Institute of Public Health (2015). URL: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/hzjz-PIJENJE-2-web.pdf> (accessed 11.03.2022).
10. Institute for Public Health of Bosnia and Herzegovina (2004). URL: <http://www.fao.org/3/a-as669o.pdf> (accessed 11.03.2022). (In Bosnian)
11. Albanian Ministry of Health and the Institute of Public Health (2008). URL: <http://www.fao.org/nutrition/education-nutritionnelle/food-dietary-guidelines/regions/albania/fr/> (accessed 11.03.2022).
12. Institute of Public Health of Slovenia (2014). URL: <https://www.nijz.si/sl/tvegano-pitje-alkohola> (accessed 11.03.2022). (In Slovenian)
13. National Institute for Health and Welfare of Finland (2016). URL: [http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/129668/TT\\_Alkoholiriskit\\_PAINO.pdf?sequence=1](http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/129668/TT_Alkoholiriskit_PAINO.pdf?sequence=1) (accessed 11.03.2022). (In Finnish)
14. Directorate of Health, Norwegian Guidelines on Diet (2016). URL: <https://www.helsedirektoratet.no/faglige-rad/kostradene-og-naeringsstoffer/inntak-av-naeringsstoffer/alkohol> (accessed 11.03.2022). (In Norwegian)
15. Federal Alcohol Commission of Switzerland (2018). URL: <https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/npp/alkohol/ekal/orientierungshilfe-alkoholkonsum.pdf.download.pdf/2-d-2015-orientierungshilfe-langversion.pdf> (accessed 11.03.2022). (In German)
16. Ministry of Health of Luxembourg (2018). URL: <https://sante.public.lu/fr/prevention/alcool/index.html> (accessed 11.03.2022). (In French)
17. Public Health France and National Cancer Institute (2017). URL: <https://www.alcool-info-service.fr/alcool/consequences-alcool/consommation-a-risque#.WRI-OQfnvRZ> (accessed 11.03.2022). (In French)
18. National Health and Medical Research Council of Australia (2009). URL: <https://www.nhmrc.gov.au/file/1641/download?token=1O3AafPu> (accessed 11.03.2022).
19. Ministry of Health of Singapore (2019). URL: <https://www.healthhub.sg/live-healthy/920/alkohol-and->

- health-set-your-drinking-limits#:~:text=Men%20should%20drink%20no%20more,(30%20ml)%20of%20spirit (дата обращения: 11.03.2022).
20. von Fingerhut G., Matsuda H., Okamoto N. et al. Physical and social effects of a daily alcohol intake of < 20 g amongst the Japanese community dwelling elderly // *J. Gerontol. Nurs. and Car. Res.* 2019;10(1):1–10.
  21. Naing N.N. Determination of sample size // *Malays. J. Med. Sci.* 2003;10(2):84–86.
  22. Backhaus J., Junghanns K., Broocks A., Riemann D., Hohagen F. Test-retest reliability and validity of the Pittsburgh Sleep Quality Index in primary insomnia // *J. Psychosom. Res.* 2002;53(3):737–740. DOI: 10.1016/s0022-3999(02)00330-6.
  23. Drinking Recommendations Among Japanese General Public. 2018. Arukoru. URL: <https://www.e-healthnet.mhlw.go.jp/information/alcohol/a-02-001.html> (дата обращения: 11.03.2022). (In Japanese)
  24. Bobak M., Pikhart H., Hertzman C., Rose R., Marmot M. Socioeconomic factors, perceived control and self-reported health in Russia. A cross-sectional survey // *Soc. Sci. Med.* 1998;47(2):269–279. DOI: 10.1016/s0277-9536(98)00095-1.
  25. Dissing A.S., Gil A., Keenan K. et al. Alcohol consumption and self-reported (SF12) physical and mental health among working-aged men in a typical Russian city: a cross-sectional study // *Addiction.* 2013;108(11):1905–1914. DOI: 10.1111/add.12257.
  26. Yeung S.L.A., Jiang C.Q., Zhang W.S. et al. Systematic differences among never, occasional and moderate alcohol users in southern China, and its use in alcohol research: a cross-sectional study // *J. Epidemiol. Community Health.* 2013;67(12):1054–1060. DOI: 10.1136/jech-2013-202807.
  27. Naimi T.S., Brown D.W., Brewer R.D. et al. Cardiovascular risk factors and confounders among non-drinking and moderate-drinking U.S. adults // *Am. J. Prev. Med.* 2005;28(4):369–373. DOI: 10.1016/j.amepre.2005.01.011.
  28. Trevisan L.A., Boutros N., Petrakis I.L., Krystal J.H. Complications of alcohol withdrawal: pathophysiological insights // *Alcohol. Health Res. World.* 1998;22(1):61–66.
  29. O’Keefe J.H., Bhatti S.K., Bajwa A., DiNicolantonio J.J., Lavie C.J. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison ... or the remedy // *Mayo Clin. Proc.* 2014;89(3):382–393. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.11.005.
  30. Choi J., Choi J.Y., Shin A. et al. Trends and correlates of high-risk alcohol consumption and types of alcoholic beverages in middle-aged Korean adults: results from the HEXA-G study // *J. Epidemiol.* 2019;29(4):125–132. DOI: 10.2188/jea.JE20170296.
  31. фон Фингергут Г., Лебедев С.В., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Влияние уровня употребления алкоголя на здоровье пожилых россиян Дальнего Востока Российской Федерации // *Тихоокеанский мед. журн.* 2021;2(84):84–88. DOI: 10.34215/1609-1175-2021-2-84-88.
  32. Kelly S., Olanrewaju O., Cowan A., Brayne C., Lafortune L. Alcohol and older people: A systematic review of barriers, facilitators and context of drinking in older people and implications for intervention design // *PLoS One.* 2018;13(1):e0191189. DOI: 10.1371/journal.pone.0191189.
  - health-set-your-drinking-limits#:~:text=Men%20should%20drink%20no%20more,(30%20ml)%20of%20spirit (accessed 11.03.2022).
  20. von Fingerhut G., Matsuda H., Okamoto N. et al. Physical and social effects of a daily alcohol intake of < 20 g amongst the Japanese community dwelling elderly. *J. Gerontol. Nurs. and Car. Res.* 2019;10(1):1–10.
  21. Naing N.N. Determination of sample size. *Malays. J. Med. Sci.* 2003;10(2):84–86.
  22. Backhaus J., Junghanns K., Broocks A., Riemann D., Hohagen F. Test-retest reliability and validity of the Pittsburgh Sleep Quality Index in primary insomnia. *J. Psychosom. Res.* 2002;53(3):737–740. DOI: 10.1016/s0022-3999(02)00330-6.
  23. Drinking Recommendations Among Japanese General Public (2018). Arukoru. URL: <https://www.e-healthnet.mhlw.go.jp/information/alcohol/a-02-001.html> (accessed 11.03.2022). (In Japanese)
  24. Bobak M., Pikhart H., Hertzman C., Rose R., Marmot M. Socioeconomic factors, perceived control and self-reported health in Russia. A cross-sectional survey. *Soc. Sci. Med.* 1998;47(2):269–279. DOI: 10.1016/s0277-9536(98)00095-1.
  25. Dissing A.S., Gil A., Keenan K. et al. Alcohol consumption and self-reported (SF12) physical and mental health among working-aged men in a typical Russian city: a cross-sectional study. *Addiction.* 2013;108(11):1905–1914. DOI: 10.1111/add.12257.
  26. Yeung S.L.A., Jiang C.Q., Zhang W.S. et al. Systematic differences among never, occasional and moderate alcohol users in southern China, and its use in alcohol research: a cross-sectional study. *J. Epidemiol. Community Health.* 2013;67(12):1054–1060. DOI: 10.1136/jech-2013-202807.
  27. Naimi T.S., Brown D.W., Brewer R.D. et al. Cardiovascular risk factors and confounders among non-drinking and moderate-drinking U.S. adults. *Am. J. Prev. Med.* 2005;28(4):369–373. DOI: 10.1016/j.amepre.2005.01.011.
  28. Trevisan L.A., Boutros N., Petrakis I.L., Krystal J.H. Complications of alcohol withdrawal: pathophysiological insights. *Alcohol. Health Res. World.* 1998;22(1):61–66.
  29. O’Keefe J.H., Bhatti S.K., Bajwa A., DiNicolantonio J.J., Lavie C.J. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison ... or the remedy. *Mayo Clin. Proc.* 2014;89(3):382–393. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.11.005.
  30. Choi J., Choi J.Y., Shin A. et al. Trends and correlates of high-risk alcohol consumption and types of alcoholic beverages in middle-aged Korean adults: results from the HEXA-G study. *J. Epidemiol.* 2019;29(4):125–132. DOI: 10.2188/jea.JE20170296.
  31. von Fingerhut G., Lebedev S.V., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. The influence of alcohol consumption on the health of Russian older people in the Russian Far East. *Pacific Medical Journal.* 2021;2(84):84–88. DOI: 10.34215/1609-1175-2021-2-84-88.
  32. Kelly S., Olanrewaju O., Cowan A., Brayne C., Lafortune L. Alcohol and older people: A systematic review of barriers, facilitators and context of drinking in older people and implications for intervention design. *PLoS One.* 2018;13(1):e0191189. DOI: 10.1371/journal.pone.0191189.

33. Meyler D., Stimpson J.P., Peek K.M. Health concordance within couples: a systematic review // *Soc. Sci. Med.* 2007;64(11):2297–2310. DOI: 10.1016/j.socscimed.2007.02.007.
34. Reczek C., Pudrovska T., Carr D., Thomeer M.B., Umberson D. Marital histories and heavy alcohol use among older adults // *J. Health Soc. Behav.* 2016;57(1):77–96. doi: 10.1177/0022146515628028.
35. Williams K. Has the future of marriage arrived? A contemporary examination of gender, marriage, and psychological well-being // *J. Health Soc. Behav.* 2003;44(4):470–487.
36. Falba T.A., Sindelar J.L. Spousal concordance in health behavior change // *Health Serv. Res.* 2008;43(1 Pt 1):96–116. DOI: 10.1111/j.1475-6773.2007.00754.x.
37. Klatsky A.L., Gunderson E.P., Kipp H., Udaltsova N., Friedman G.D. Higher prevalence of systemic hypertension among moderate alcohol drinkers: an exploration of the role of underreporting // *J. Stud. Alcohol.* 2006;67(3):421–428. DOI: 10.15288/jsa.2006.67.421.
38. Lloyd-Sherlock P., Beard J., Minicuci N., Ebrahim S., Chatterji S. Hypertension among older adults in low- and middle-income countries: prevalence, awareness and control // *Int. J. Epidemiol.* 2014;43(1):116–128. DOI: 10.1093/ije/dyt215.
39. Matsuda H., Mizukami K., Yanagi H., Okamoto N. Best Caring for Long-Term Care Prevention. For the Elderly to Live Well. 1st ed. Japan, TYO: Medical View Publishers, 2016. P. 18–33. (In Japanese)
40. von Fingerhut G., Araki A., Okamoto N. Relations of alcohol consumption and sleep among community-dwelling elderly living in cold region of Russia: a cross-sectional study // *Nihon Ronen Igakkai Zasshi.* 2020;57(4):458–466. DOI: 10.3143/geriatrics.57.458. (In Japanese)
41. Wall T.L., Luczak S.E., Hiller-Sturmhöfel S. Biology, genetics, and environment: underlying factors influencing alcohol metabolism // *Alcohol. Res.* 2016;38(1):59–68.
42. Бочкарев М.В., Коростовцева Л.С., Фильченко И.А. и др. Жалобы на нарушения дыхания во сне и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний в регионах России: данные исследования ЭССЕ-РФ // *Рос. кардиол. журн.* 2018;23(6):152–158. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-6-152-158.
43. Garvey J.F., Pengo M.F., Drakatos P., Kent B.D. Epidemiological aspects of obstructive sleep apnea // *J. Thorac. Dis.* 2015;7(5):920–929.
44. Klatsky A., Udaltsova N. Alcohol drinking and total mortality risk // *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):63–67. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.014.
45. Rimm E., Moats C. Alcohol and coronary heart disease: drinking patterns and mediators of effect // *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):S3–S7. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.002.
46. Mukamal K. Alcohol intake and noncoronary cardiovascular diseases // *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):S8–S12. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.003.
33. Meyler D., Stimpson J.P., Peek K.M. Health concordance within couples: a systematic review. *Soc. Sci. Med.* 2007;64(11):2297–2310. DOI: 10.1016/j.socscimed.2007.02.007.
34. Reczek C., Pudrovska T., Carr D., Thomeer M.B., Umberson D. Marital histories and heavy alcohol use among older adults. *J. Health Soc. Behav.* 2016;57(1):77–96. DOI: 10.1177/0022146515628028.
35. Williams K. Has the future of marriage arrived? A contemporary examination of gender, marriage, and psychological well-being. *J. Health Soc. Behav.* 2003;44(4):470–487.
36. Falba T.A., Sindelar J.L. Spousal concordance in health behavior change. *Health Serv. Res.* 2008;43(1 Pt 1):96–116. DOI: 10.1111/j.1475-6773.2007.00754.x.
37. Klatsky A.L., Gunderson E.P., Kipp H., Udaltsova N., Friedman G.D. Higher prevalence of systemic hypertension among moderate alcohol drinkers: an exploration of the role of underreporting. *J. Stud. Alcohol.* 2006;67(3):421–428. DOI: 10.15288/jsa.2006.67.421.
38. Lloyd-Sherlock P., Beard J., Minicuci N., Ebrahim S., Chatterji S. Hypertension among older adults in low- and middle-income countries: prevalence, awareness and control. *Int. J. Epidemiol.* 2014;43(1):116–128. DOI: 10.1093/ije/dyt215.
39. Matsuda H., Mizukami K., Yanagi H., Okamoto N. (2016). *Best Caring for Long-Term Care Prevention. For the Elderly to Live Well.* 1st ed. Japan, TYO: Medical View Publishers, P. 18–33. (In Japanese)
40. von Fingerhut G., Araki A., Okamoto N. Relations of alcohol consumption and sleep among community-dwelling elderly living in cold region of Russia: a cross-sectional study. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi.* 2020;57(4):458–466. DOI: 10.3143/geriatrics.57.458. (In Japanese)
41. Wall T.L., Luczak S.E., Hiller-Sturmhöfel S. Biology, genetics, and environment: underlying factors influencing alcohol metabolism. *Alcohol. Res.* 2016;38(1):59–68.
42. Bochkarev M.V., Korostovtseva L.S., Filchenko I.A. et al. Complaints on sleep breathing disorder and cardiovascular risk factors in Russian regions: data from ESSE-RF study. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;23(6):152–158. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-6-152-158.
43. Garvey J.F., Pengo M.F., Drakatos P., Kent B.D. Epidemiological aspects of obstructive sleep apnea. *J. Thorac. Dis.* 2015;7(5):920–929.
44. Klatsky A., Udaltsova N. Alcohol drinking and total mortality risk. *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):63–67. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.014.
45. Rimm E., Moats C. Alcohol and coronary heart disease: drinking patterns and mediators of effect. *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):S3–S7. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.002.
46. Mukamal K. Alcohol intake and noncoronary cardiovascular diseases. *Ann. Epidemiol.* 2007;17(5):S8–S12. DOI: 10.1016/j.annepidem.2007.01.003.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**фон Фингергут Георг** – PhD Candidate, Высшая школа комплексных наук о человеке, Университет Цукубы, Цукуба, Япония. ORCID: 0000-0003-4064-5228.

## ABOUT THE AUTHORS

**Georg von Fingerhut** – PhD Candidate, Student in the Doctoral Program, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan. ORCID: 0000-0003-4064-5228.

**Мегуро Акане** – PhD Candidate (социология), Высшая школа гуманитарных и социальных наук, Университет Цукубы, Цукуба, Япония; научный сотрудник Японского общества содействия науке, Токио, Япония.

**Макаров Константин Юрьевич** – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, декан факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Ким Юрий Олегович** – д-р мед. наук, профессор кафедры сестринского дела ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Кондюрина Елена Генадьевна** – д-р мед. наук, профессор кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Яковлева Людмила Анатольевна** – ассистент кафедры сестринского дела ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Akane Meguro** – PhD Candidate in Sociology, Student in the Doctoral Program, Graduate School of Humanities and Social Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan; Research Fellow, Japan Society of the Promotion of Science, Tokyo, Japan.

**Konstantin Yu. Makarov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Dean, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Physicians, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Yuriy O. Kim** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Nursing, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Elena G. Kondyurina** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pediatrics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Lyudmila A. Yakovleva** – Assistant, Department of Nursing, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.



## Инотропные эффекты изолированного сердца крысы при коронарной перфузии иммобилизованными субтилизинами

Г.И. Байкалов<sup>1, 2</sup>, Н.П. Леонов<sup>1</sup>, П.Г. Мадонов<sup>1, 2</sup>, К.И. Ершов<sup>1, 2</sup>, К.И. Бахарева<sup>1</sup>, М.С. Солдатова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

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

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** В настоящее время иммобилизованные субтилизины (ИмС) используются в качестве фибринолитического агента антитромботических лекарственных средств. Влияние ИмС на сократительную функцию сердца ранее не было изучено.

**Ц е л ь .** Изучить влияние коронарной перфузии ИмС на сократительную функцию изолированного сердца крысы в эксперименте.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В исследовании использована модель коронарной ретроградной перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу растворами ИмС в разных концентрациях. В эксперимент было включено 50 крыс-самцов. Животные были разделены на 5 групп: 1-я группа – контрольная (сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта) и 4 опытные группы – сердца, перфузируемые раствором ИмС в концентрациях 170, 340, 510 и 1020 ЕД/л соответственно. Сократительную функцию (инотропный эффект) изолированного сердца крысы оценивали по показателю давления, развиваемого левым желудочком (ДЛЖ).

**Р е з у л ь т а т ы .** Перфузия изолированного сердца крысы раствором ИмС в течение 40 мин вызывает положительный инотропный эффект во всех опытных группах. При концентрации 170 ЕД/л эффект наблюдается с 10-й минуты, при более высоких концентрациях – с 5-й минуты. Длительность нарастания эффекта при применении ИмС в диапазоне доз 170–510 ЕД/л проявляется до 20-й минуты, а при использовании дозы 1020 ЕД/л – до 30-й минуты. Затем отмечается ослабление инотропного эффекта. В группах животных с введением ИмС в концентрации 340–1020 ЕД/л отмечается снижение ДЛЖ к 40-й минуте, но значения этого показателя остаются выше по сравнению с контрольной группой.

**З а к л ю ч е н и е .** Перфузия изолированного сердца раствором ИмС повышает сократительную активность изолированного сердца. При перфузии ИмС наблюдается увеличение ДЛЖ. Инотропный эффект имеет дозозависимый характер в различных временных точках.

**Ключевые слова:** иммобилизованные субтилизины, сократительная способность сердца, Тромбозавим.

**Образец цитирования:** Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С. Инотропные эффекты изолированного сердца крысы при коронарной перфузии иммобилизованными субтилизинами // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):96–107. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-96-107

## Inotropic effects of an isolated rat heart under the coronary perfusion with immobilized subtilisins

G.I. Baikalov<sup>1, 2</sup>, N.P. Leonov<sup>1</sup>, P.G. Madonov<sup>1, 2</sup>, K.I. Ershov<sup>1, 2</sup>, K.I. Bakhareva<sup>1</sup>, M.S. Soldatova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

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

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Immobilized subtilisins are currently used as a fibrinolytic agent in antithrombotic drugs. The effect of immobilized subtilisins (ISs) on the contractile function of the heart has not been previously studied.

Поступила в редакцию 09.04.2022  
Прошла рецензирование 15.06.2022  
Принята к публикации 16.06.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Байкалов Герман Игоревич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.  
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

Received 09.04.2022  
Revised 15.06.2022  
Accepted 16.06.2022

*Corresponding author*  
German I. Baikalov: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: gbaikalov@yandex.ru

**A i m .** To study the effect of coronary perfusion with immobilized subtilisins (ISs) on the contractile function of an isolated rat heart in an experiment.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The study used a Langendorff model of coronary retrograde perfusion of an isolated rat heart with solutions of ISs at different concentrations. The experiment included 50 male rats. The animals were divided into 5 groups: group 1 – control (hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution) and 4 experimental groups – hearts perfused with a solution of ISs at concentrations of 170, 340, 510 and 1020 IU/l, respectively. The contractile function (inotropic effect) of the isolated rat heart was assessed in terms of the pressure developed by the left ventricle (LVP).

**R e s u l t s .** Perfusion of an isolated rat heart with a solution of ISs for 40 min causes a positive inotropic effect in all experimental groups. At a concentration of 170 IU/l, the effect is observed from the 10th minute, at higher concentrations – from the 5th minute. The duration of the effect's rising when using ISs in the dose range of 170–510 U/l manifests itself up to the 20th minute, and when using a dose of 1020 U/l – up to the 30th minute. Then there is a weakening of the inotropic effect. In groups of animals with the introduction of immobilized subtilisins at a concentration of 340–1020 U/l, there is a decrease of LVP by the 40th minute, but the values of this indicator remain higher compared to the control group.

**C o n c l u s i o n .** Perfusion of the isolated heart with a solution of ISs increases the contractile activity of the isolated heart. When the heart is perfused with ISs, there is an increase of LVP. The inotropic effect is dose-dependent at various time points.

**Keywords:** immobilized subtilisins, cardiac contractility, Trombovazim.

**Citation example:** Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S. Inotropic effects of an isolated rat heart under the coronary perfusion with immobilized subtilisins. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):96–107. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-96-107

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время иммобилизованные субтилизины (ИмС) используются в качестве фибринолитического агента антитромботических лекарственных средств [1–4]. В России зарегистрирован лекарственный препарат Тромбовазим на основе ИмС в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда (лиофилизат для инфузии) и венозной недостаточности (капсулы для приема внутрь). Основа фармакодинамики ИмС – прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас и прямое протеолитическое – на клеточно-белковый детрит тромба. Фармакологически активным ингредиентом ИмС является протеиназа – субтилизин. На этапе регистрационных исследований вопрос о влиянии ИмС на сократительную функцию сердца не изучен. В экспериментальной фармакологии применяется модель изолированного сердца крысы по Лангендорфу, которая позволяет установить фармакологические эффекты препаратов без участия нервной и гуморальной систем регуляции [5–7]. Сократительную функцию (инотропный эффект) изолированного сердца крысы можно оценить по давлению, развиваемому левым желудочком (ДЛЖ) [8–10].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние коронарной перфузии ИмС на сократительную функцию изолированного сердца крысы в эксперименте по Лангендорфу.

## INTRODUCTION

Currently, immobilized subtilisins (ISs) are used as a fibrinolytic agent in antithrombotic drugs [1–4]. In Russia, the drug Trombovasim based on ISs has been registered as a thrombolytic agent for the treatment of acute myocardial infarction (lyophilisate for infusion) and venous insufficiency (capsules for oral administration). The basis of the pharmacodynamics of ISs is a direct fibrinolytic effect on the fibrin scaffold and a direct proteolytic effect on the cellular protein detritus of the thrombus. The pharmacologically active ingredient of ISs is a proteinase – subtilisin. At the stage of registration studies, the issue of the ISs' effect on the contractile function of the heart has not been studied. In experimental pharmacology, the Langendorff-perfused rat heart is used, which makes it possible to establish the pharmacological effects of drugs without the participation of the nervous and humoral regulatory systems [5–7]. The contractile function (inotropic effect) of the isolated rat heart can be assessed by the pressure developed by the left ventricle (LVP) [8–10].

## AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of coronary perfusion of ISs on the contractile function of an isolated rat heart in the Langendorff experiment.

## MATERIALS AND METHODS

The experiments were performed according to the classical Langendorff method [11]. Perfusion through coronary vessels was performed at a constant pres-

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены по классической методике Лангендорфа [11]. Перфузию через коронарные сосуды проводили при постоянном давлении 80 мм рт. ст. В качестве перфузата использовался раствор Кребса – Хензеляйта (рН – 7.4, температура – 37.5 °С), который являлся контролем и растворителем для исследуемого препарата. Для адекватной оксигенации сердца перфузионный раствор насыщался карбогеном (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Инотропный эффект ИмС оценивался по показателю давления в левом желудочке. Для регистрации давления использовали баллончик в полости левого желудочка. Объем жидкости, подаваемый в баллончик, соответствует нижней границе красной вертикальной шкалы до отметки, равной 0.25 В. Далее сигнал поступал на аналогово-цифровой преобразователь и затем на персональный компьютер. Данные о силе сокращения левого желудочка представлены в виде значений напряжения в вольтах (высота пика), измеренного на осциллографе DiSco 2 (ООО «Мотор-Мастер», Россия). По окончании эксперимента полученные данные высоты пика вносили в таблицу Excel, и программа автоматически пересчитывала значения из вольт в мм рт. ст.

Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Животные были разделены на 5 групп (в каждой по 10 особей): 1-я группа – контрольная, сердца перфузируются только раствором Кребса – Хензеляйта; и 4 опытные группы – сердца, перфузируются ИмС в концентрациях 170, 340, 510 и 1020 Ед/л соответственно. Концентрации соответствуют терапевтическим дозам лекарственного препарата на основе ИмС. В опытных группах по истечении 20 мин перфузии на фоне стабильной работы сердца в перфузат вносились ИмС в расчетной дозе. Момент введения иммобилизованных субтилизинов в перфузионный раствор обозначался как точка 0 (нулевая минута). В этой точке ДЛЖ считается исходным. Перфузия исследуемым препаратом продолжалась в течение 40 мин. Изменения ДЛЖ фиксировались на 5, 10, 20, 30 и 40-й минутах. В контрольной группе с 0-й по 40-ю минуту перфузия производилась раствором Кребса – Хензеляйта.

Статистический анализ данных проведен с использованием программ MedCalc 11.3.3 (MedCalc Software), STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Office Excel 2007. Показатели давления в левом желудочке в группах на этапах исследования, а также разность показателей давления в левом желудочке между этапами исследования ( $\Delta T$ ) представлены как медианные и

sure of 80 mm Hg. Krebs-Henseleit solution (pH – 7.4, temperature – 37.5°C) was used as perfusate, which was the control and solvent for the studied drug. For adequate oxygenation of the heart, the perfusion solution was saturated with carbogen (95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>). The inotropic effect of ISs was assessed by the LVP value. To register the pressure, a balloon was used in the cavity of the left ventricle. The volume of liquid supplied to the balloon corresponds to the lower limit of the red vertical scale up to a mark equal to 0.25 V. Then the signal was sent to an analog-to-digital converter and then to a personal computer. Data on the strength of contraction of the left ventricle are presented in the form of voltage values in volts (peak height) measured on a DiSco 2 oscilloscope (Motor-Master LLC, Russia). At the end of the experiment, the obtained peak height data was entered into an Excel spreadsheet, and the program automatically recalculated the values from volts to mm Hg.

The experiments were carried out on 50 male Wistar rats weighing 280–320 g. The animals were divided into 5 groups (each with 10 individuals): group 1 – control, hearts perfused only with Krebs-Henseleit solution, and 4 experimental groups – hearts perfused with ISs at concentrations of 170, 340, 510 and 1020 U/l, respectively. Concentrations correspond to therapeutic doses of a ISs-based drug. In the experimental groups, after 20 min of perfusion, ISs were introduced into the perfusate at the calculated dose in stable heart function. The moment of introduction of ISs into the perfusion solution was designated as point 0 (zero minute). At this point, the LVP is considered as a baseline. Perfusion with the studied drug lasted for 40 min. Changes in the LVP were recorded at 5, 10, 20, 30 and 40 min. In the control group, perfusion was performed with Krebs-Henseleit solution from the 0th to the 40th minute.

Statistical data analysis was carried out using MedCalc 11.3.3 (MedCalc Software), STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc.) and Microsoft Office Excel 2007. The LVP in the groups at the study stages, as well as the difference in the left ventricle pressure between the study stages ( $\Delta T$ ) are presented as median and interquartile ranges. Verification of the normality of the distribution of quantitative parameters was carried out using the Shapiro-Wilk test. For data with a normal distribution, an *F*-test for homogeneity of variances was used. For the intergroup comparison of the repeated-measure analysis of variance (RM-ANOVA) was used. Given that some of the data had a different distribution from normal and some data showed inhomogeneity of variances, a logarithmic transformation of the data was performed before RM-ANOVA. During the RM-ANOVA, the Green-

межквартильные диапазоны. Проверка нормальности распределения количественных признаков проведена с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для данных, имеющих нормальное распределение, использовался  $F$ -тест для проверки предположения об однородности дисперсий. Для межгруппового сравнения повторных измерений использован дисперсионный анализ повторных измерений (RM-ANOVA). Учитывая, что часть данных имела отличное от нормального распределение и некоторые данные показывали негомогенность дисперсий, перед проведением RM-ANOVA выполнена логарифмическая трансформация данных. При проведении RM-ANOVA оценивался коэффициент сферичности Гринхуса – Гейсера, который использован в качестве поправочного коэффициента, примененного к степеням свободы, используемым для расчета  $p$  для наблюдаемого значения  $F$ . Результаты RM-ANOVA представлены как межгрупповой эффект – BSE (разница между группами) и внутригрупповые эффекты – WSE ( $F$  – разница между измерениями и  $G \cdot F$  – разница между измерениями в зависимости от принадлежности к группе). После выполнения RM-ANOVA при наличии значимых ( $p < 0.05$ ) межгрупповых и внутригрупповых эффектов выполнены *post hoc* анализы. Тест Фридмана использовался для внутригруппового анализа повторных измерений с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Вилкоксона с применением поправки Бонферрони к значению  $p$ ; тест Крускала – Уоллиса – для межгруппового анализа количественных показателей в 3 и более группах с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Коновера – Инмана.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния перфузии ИмС на силу мышечных сокращений изолированного сердца проводилась регистрация давления, развиваемого кардиомиоцитами в левом желудочке. В соответствии с методологией эксперимента этот показатель представляет собой давление в баллоне, находящемся в левом желудочке, и выражается в мм рт. ст. В табл. 1 представлены цифровые значения ДЛЖ во всех исследуемых группах, включая контрольную, на всех временных этапах эксперимента.

Для удобства анализа этого показателя построен график (рис. 1). Очевидно, что перфузия изолированного сердца раствором ИмС приводит к нарастанию силы сердечных сокращений при всех концентрациях исследуемого препарата по сравнению с перфузией раствором Кребса –

house-Geisser sphericity index was estimated, which is used as a correction factor applied to the degrees of freedom used to calculate  $p$  for the observed value of  $F$ . The results of RM-ANOVA are presented as an intergroup effect – BSE (difference between groups) and intragroup effects – WSE ( $F$  – difference between measurements and  $G \cdot F$  – difference between measurements depending on group membership). After RM-ANOVA was conducted, *post hoc* analyses were performed in the presence of significant ( $p < 0.05$ ) intergroup and intragroup effects. The Friedman test was used for intragroup analysis of repeated measurements followed by a posteriori comparison using the Wilcoxon test with the Bonferroni correction to the  $p$  value; the Kruskal-Wallis test was used for intergroup analysis of quantitative indicators in 3 or more groups followed by a posteriori comparison using the Conover-Inman test.

## RESULTS AND DISCUSSION

To assess the effect of perfusion with ISs on the strength of muscle contractions of an isolated heart, the pressure developed by cardiomyocytes in the left ventricle was recorded. In accordance with the methodology of the experiment, this indicator represents the pressure in the balloon located in the left ventricle, and is expressed in mm Hg. Table 1 shows the values of the LVP in all the study groups, including the control group, at all time stages of the experiment.

For the convenience of analyzing this indicator, a graph has been constructed (Fig. 1). It is obvious that perfusion of the isolated heart with a solution of ISs leads to an increase in the strength of heart contractions at all concentrations of the studied drug compared to perfusion with a Krebs-Henseleit solution. Change in myocardial contractility is an increase followed by a decrease in the LVP. This circumstance dictates the need to analyze the dynamics of changes (difference) of this indicator ( $\Delta T$ ) at the stages of the experiment.

The analysis of the dynamics of changes ( $\Delta T$  – difference) in the LVP in the experimental and control groups between the stages of the study is presented in Table 2.

After 5 min of perfusion with a solution of ISs, there was an increase in the LVP for all concentrations ( $p < 0.05$ ) compared with the control (Fig. 2).

At the next time interval (5–10 min), there was an increase in the dynamics of the LVP in all experimental groups ( $p < 0.05$ ) compared with the control group. A similar trend was observed when analyzing the dynamics of the LVP and up to the 20th minute (Fig. 3, 4).

In the period from the 20th to the 30th minute of perfusion, the dynamics of myocardial contractility

**Таблица 1.** Значения давления в левом желудочке, мм рт. ст.  
**Table 1.** Values of pressure in the left ventricle, mm Hg

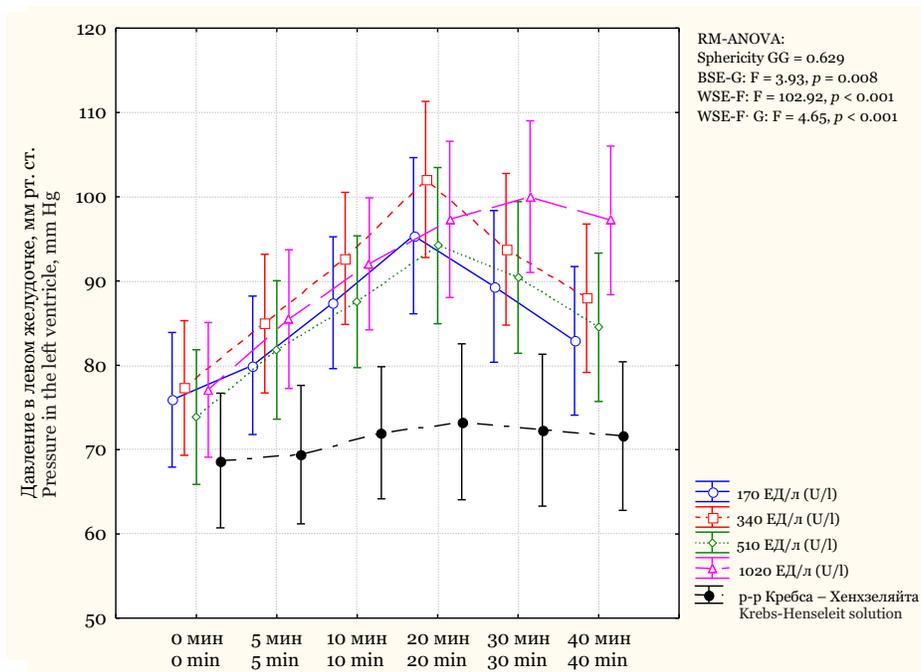
Группа Group	0 мин 0 min	5 мин 5 min	10 мин 10 min	20 мин 20 min	30 мин 30 min	40 мин 40 min	p
ИмС 170 ЕД/л ISs 170 U/l (n = 10)	79 (71; 82)	81 (73; 84)#	88 (81; 91)#★	92 (88; 108)#★	88 (86; 97)#★	82 (78; 86)#	<0.001†
ИмС 340 ЕД/л ISs 340 U/l (n = 10)	77 (70; 86)	86 (84; 92)#★	94 (89; 101)#★	102 (95; 108)#★	94 (86; 97)#★	90 (81; 91)#★	<0.001†
ИмС 510 ЕД/л ISs 510 U/l (n = 10)	72 (70; 91)	81 (70; 98)#★	87 (81; 102)#★	94 (86; 103)#★	88 (80; 99)#★	82 (75; 94)#★	<0.001†
ИмС 1020 ЕД/л ISs 1020 U/l (n = 10)	73 (68; 91)	80 (74; 102)#★	87 (81; 105)#★	94 (88; 110)#★	99 (90; 104)#★	97 (78; 115)#★	<0.001†
Контроль (р-р Кребса – Хенхзеляйта) Control (Krebs- Henseleit solution) (n = 10)	69 (64; 72)	70 (65; 72)	73 (68; 75)★	73 (70; 76)★	73 (68; 76)★	71 (68; 76)★	<0.001†
p	0.34*	0.03*	0.002*	0.0009*	0.0007*	0.0035*	

П р и м е ч а н и я : RM-ANOVA: индекс сферичности Гринхауса – Гейсера – 0.629; BSE-G:  $F = 3.93, p = 0.008$ ; WSE-F:  $F = 102.92, p < 0.001$ ; WSE-F · G:  $F = 4.65, p < 0.001$ .

Данные представлены как медиана (25-й; 75-й процентиль); \* тест Крускала – Уоллиса; #  $p < 0.05$  тест Коновера – Инмана (сравнение с контрольной группой); † тест Фридмана; ★  $p < 0.0083$  тест Вилкоксона для парных выборок (сравнение с начальным этапом).

N o t e s : RM-ANOVA: Greenhouse-Geisser sphericity index – 0.629; BSE-G:  $F = 3.93, p = 0.008$ ; WSE-F:  $F = 102.92, p < 0.001$ ; WSE-F · G:  $F = 4.65, p < 0.001$ .

Data are presented as median (25th; 75th percentile); \* Kruskal-Wallis test; #  $p < 0.05$  Conover-Inman test (comparison with the control group); † Friedman test; ★  $p < 0.0083$  Wilcoxon test for paired samples (comparison with baseline).



**Рис. 1.** Изменение давления в левом желудочке при перфузии изолированного сердца в исследуемых группах раствором ИмС в разной концентрации и контрольным раствором

**Fig. 1.** Changes in the LVP during perfusion of an isolated heart in the studied groups with a solution of ISs at different concentrations and the control solution

**Таблица 2.** Разность изменения ДЛЖ ( $\Delta T$ ) в опытных и контрольной группах между этапами исследования  
**Table 2.** The difference in the change in LVP ( $\Delta T$ ) in the experimental and control groups between the stages of the study

Группа	$\Delta T_{1(0-5)}$	$\Delta T_{2(5-10)}$	$\Delta T_{3(10-20)}$	$\Delta T_{4(20-30)}$	$\Delta T_{5(30-40)}$	$\frac{\Delta T_{\text{общ}(0-40)}}{\Delta T_{\text{general}(0-40)}}$
ИмС 170 ЕД/л ISs 170 U/l (n = 10)	-5.4 (-10.8; -1.1)#	-6.5 (-9.7; -4.3)#	-7.5 (-17.2; -2.2)#	5.4 (2.2; 8.6)#	5.9 (3.2; 10.8)#	-5.9 (-11.8; -3.2)#
ИмС 340 ЕД/л ISs 340 U/l (n = 10)	-6.5 (-10.8; -5.4)#	-8.1 (-10.8; -5.4)#	-7 (-14; -5.4)#	9.7 (5.4; 10.8)#	5.4 (5.4; 6.5)#	-9.7 (-18.3; -5.4)#
ИмС 510 ЕД/л ISs 510 U/l (n = 10)	-9.1 (-10.8; -5.4)#	-4.8 (-6.5; -4.3)#	-5.9 (-9.7; -3.2)#	5.9 (-1.1; 7.5)	5.9 (4.3; 10.8)#	-8.6 (-17.2; -6.5)#
ИмС 1020 ЕД/л ISs 1020 U/l (n = 10)	-5.9 (-10.8; -5.4)#	-7 (-8.6; -3.2)#	-5.4 (-6.5; -4.3)#	-5.4 (-8.6; 5.4)	6.5 (-6.5; 11.8)#	-13.4 (-36.6; -10.8)#
Контроль (р-р Кребса – Хензеляйта) Control (Krebs- Henseleit solution) (n = 10)	-0.5 (-2; 1)	-3 (-3; -2)	-1 (-2; -1)	1 (0; 2)	1 (0; 2)	-3 (-4; -2)
p	0.0006*	0.0001*	0.0024*	0.001*	0.03*	0.0015*

П р и м е ч а н и е . Данные представлены как медиана (25-й; 75-й процентиль); \* тест Крускала – Уоллиса; #  $p < 0.05$  тест Коновера – Инмана (сравнение с контрольной группой).

N o t e s . Data are presented as median (25th; 75th percentile); \* Kruskal-Wallis test; #  $p < 0.05$  Conover-Inman test (comparison with the control group).

Хензеляйта. Изменение контрактильности миокарда представляет собой повышение с последующим снижением показателя ДЛЖ. Это обстоятельство диктует необходимость проведения анализа динамики изменений (разности) этого показателя ( $\Delta T$ ) на этапах эксперимента.

Анализ динамики изменений ( $\Delta T$  – разность) ДЛЖ в опытных и контрольной группах между этапами исследования представлен в табл. 2.

Через 5 мин перфузии раствором ИмС отмечается прирост ДЛЖ для всех концентраций ( $p < 0.05$ ) по сравнению с контролем (рис. 2).

На следующем временном отрезке (5–10 мин) отмечалось увеличение динамики показателя ДЛЖ во всех опытных группах ( $p < 0.05$ ) по сравнению с группой контроля. Аналогичный тренд наблюдался при анализе динамики ДЛЖ и до 20-й минуты (рис. 3, 4).

В период с 20-й по 30-ю минуту перфузии динамика контрактильности миокарда показала тренд на снижение (возврат к исходным значениям) только в группах с концентрацией ИмС 170 и 340 ЕД/л (рис. 5). При этом значения ДЛЖ (см. табл. 1, рис. 1) во всех группах оставались выше значений ДЛЖ в контрольной группе.

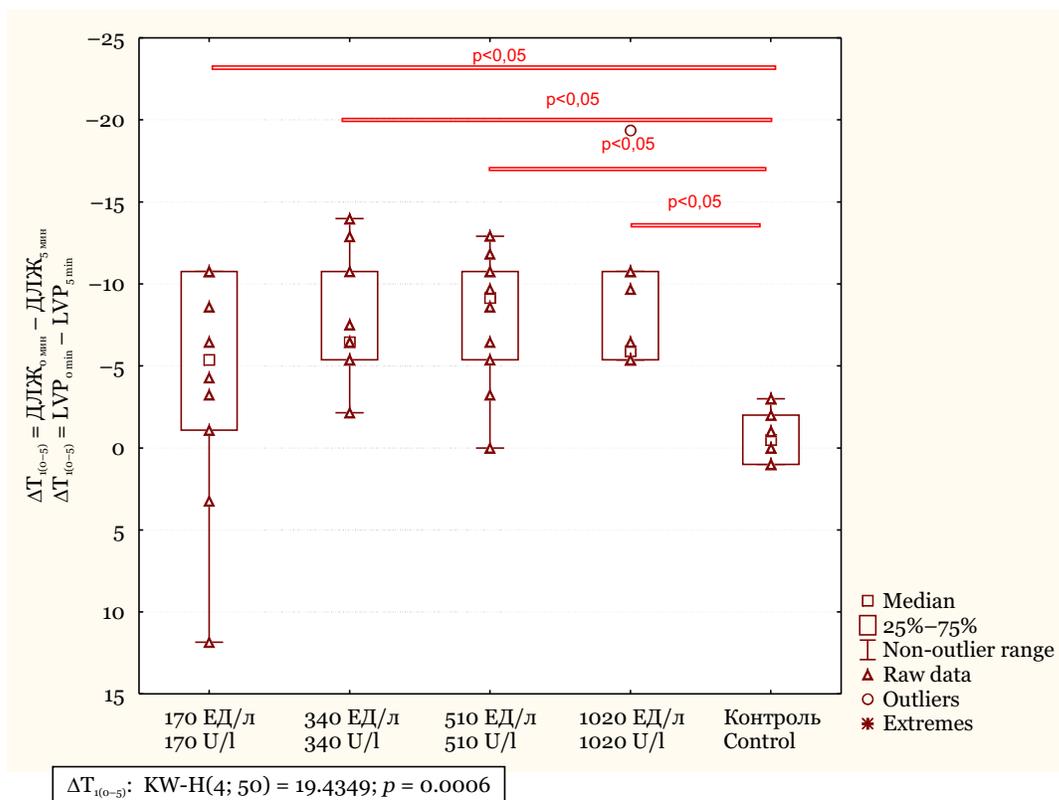
В период с 30-й по 40-ю минуту перфузии динамика контрактильности миокарда имела тренд на снижение во всех опытных группах, что

showed a downward trend (return to baseline values) only in groups at a ISs concentration of 170 and 340 U/l (Fig. 5). At the same time, in all groups the values of the LVP (see Table 1, Fig. 1) remained above the values of the LVP in the control group.

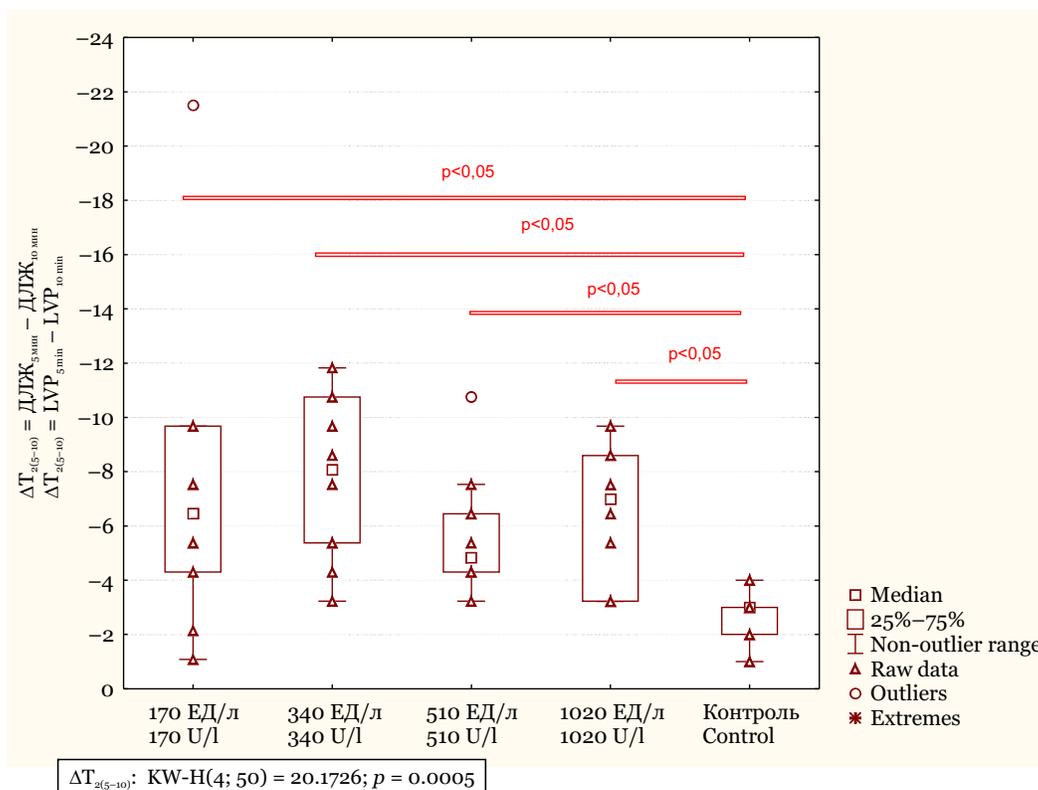
In the period from the 30th to the 40th minute of perfusion, the dynamics of myocardial contractility tended to decrease in all experimental groups, which indicated a weakening of the inotropic effect of ISs and a return of the LVP to the baseline values (Fig. 6). At the same time, in all groups the LVP values (see Fig. 1, Table 1) remained higher than the LVP values in the control group.

In the diagram shown on Fig. 7, the dynamics of the LVP increase under the perfusion with ISs and Krebs-Henseleit control solution during the entire time of the experiment is displayed. All the concentrations of ISs have an increase in the LVP compared to the control group ( $p < 0.05$ ).

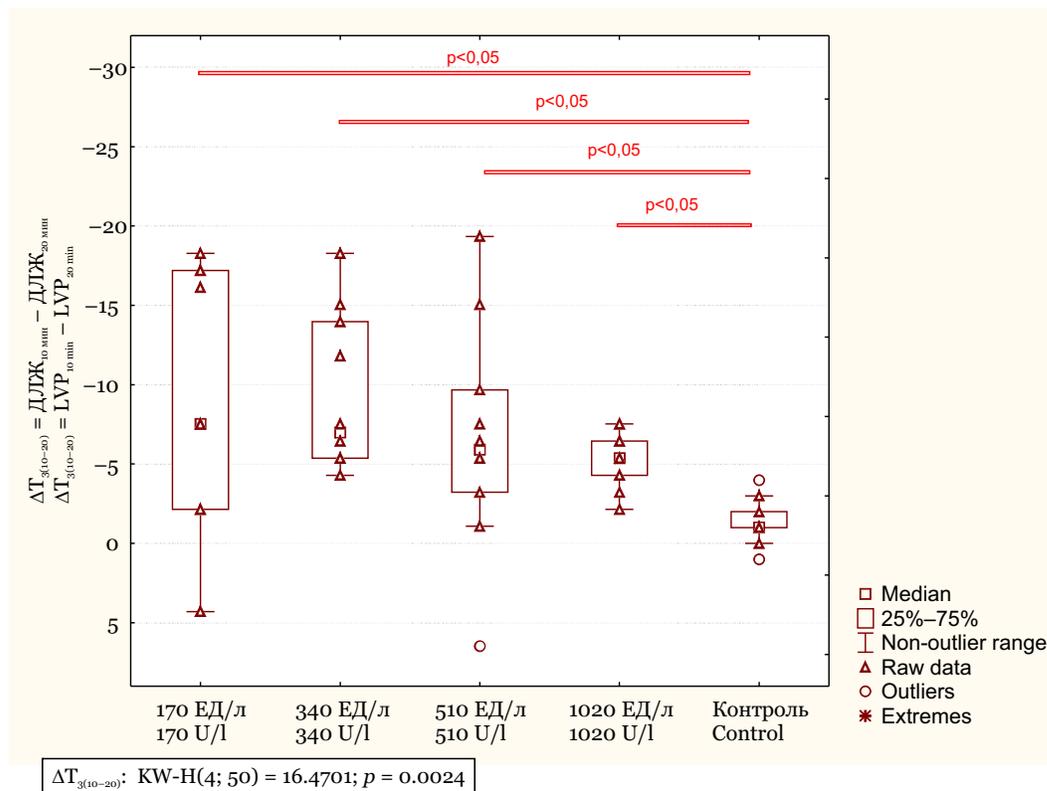
Thus, the perfusion of an isolated heart with a solution of ISs increases the pressure in the left ventricle, which, in turn, indicates a positive inotropic effect caused by them. The onset of the effect depends on the concentration of the ISs in the solution. At a concentration of 170 U/l, an increase in the pressure in the left ventricle is detected from the 10th minute, at higher concentrations – from the 5th minute. The duration of the increase in the effect when using ISs



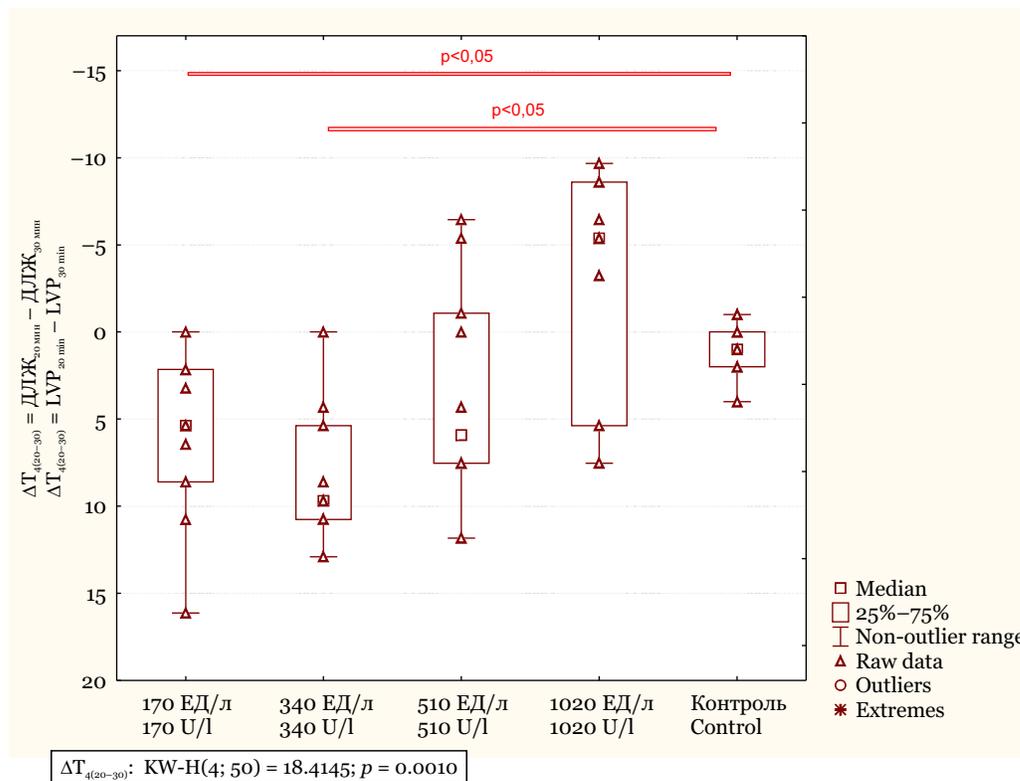
**Рис. 2.** Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 5-й минуте перфузии  $\Delta T_{1(0-5)}$   
**Fig. 2.** The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 5th minute of perfusion ( $\Delta T_{1(0-5)}$ )



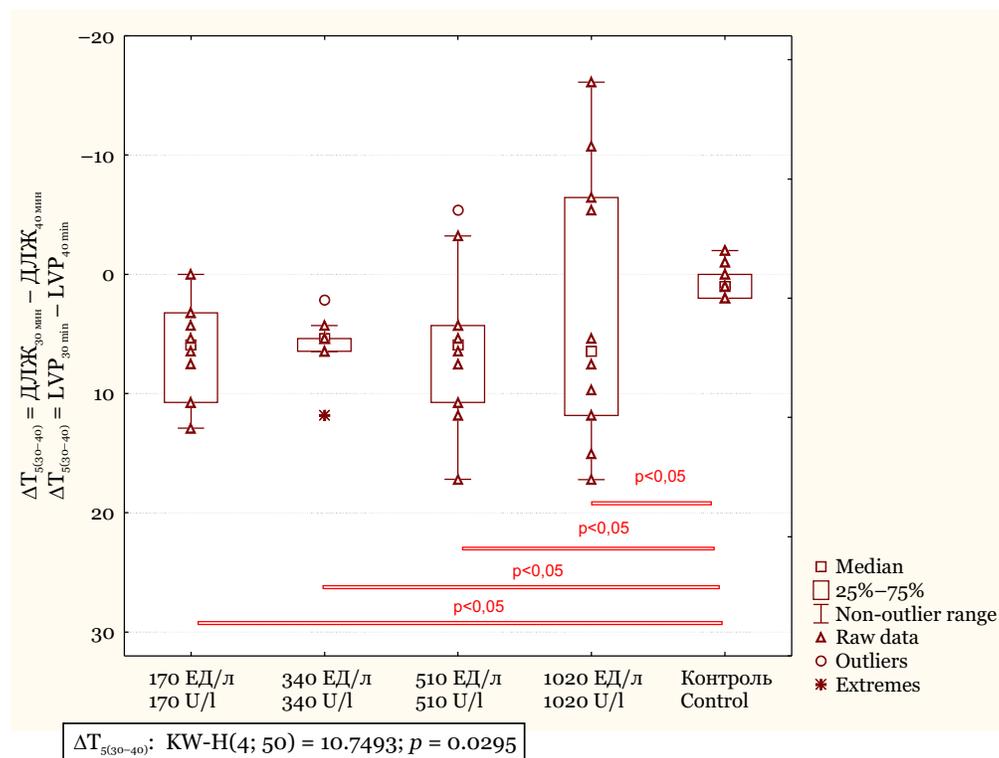
**Рис. 3.** Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 10-й минуте перфузии  $\Delta T_{2(5-10)}$   
**Fig. 3.** The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 10th minute of perfusion ( $\Delta T_{2(5-10)}$ )



**Рис. 4.** Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 20-й минуте перфузии  $\Delta T_{3(10-20)}$   
**Fig. 4.** The difference in the LVP in the experimental and control groups at the 20th minute of perfusion ( $\Delta T_{3(10-20)}$ )



**Рис. 5.** Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 30-й минуте перфузии  $\Delta T_{4(20-30)}$   
**Fig. 5.** The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 30th minute of perfusion ( $\Delta T_{4(20-30)}$ )



**Рис. 6.** Разность изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах на 40-й минуте перфузии  $\Delta T_{5(30-40)}$   
**Fig. 6.** The difference in changes of the LVP in the experimental and control groups at the 40th minute of perfusion ( $\Delta T_{5(30-40)}$ )

свидетельствовало об ослаблении инотропного действия ИмС и возврате ДЛЖ к исходным значениям (рис. 6). При этом значения ДЛЖ (см. табл. 1, рис. 1) во всех группах оставались выше значений ДЛЖ в контрольной группе.

На диаграмме, представленной на рис. 7, отражена динамика прироста ДЛЖ при перфузии ИмС и контрольным раствором Кребса – Хензелята в течение всего времени эксперимента. Все концентрации ИмС имеют прирост ДЛЖ по сравнению с группой контроля ( $p < 0.05$ ).

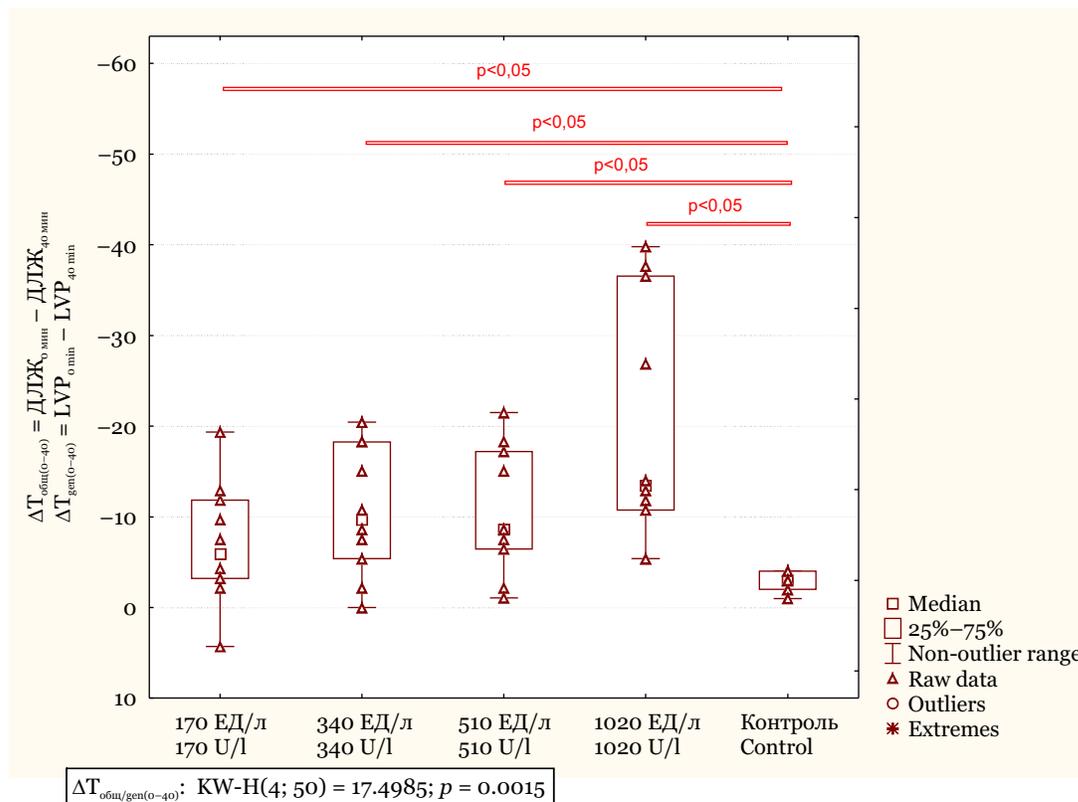
Таким образом, перфузия изолированного сердца раствором иммобилизованных субтилизинов увеличивает давление в левом желудочке, что, в свою очередь, свидетельствует об обусловливаемом ими положительном инотропном эффекте. Начало эффекта зависит от концентрации ИмС в растворе. При концентрации 170 ЕД/л увеличение давления в левом желудочке обнаруживается с 10-й минуты, при более высоких концентрациях – с 5-й минуты. Длительность нарастания эффекта при применении ИмС в диапазоне доз 170–510 ЕД/л проявляется до 20-й минуты, а при использовании дозы 1020 ЕД/л – до 30-й минуты. Затем отмечается уменьшение этого эффекта. При применении ИмС в дозе 170 ЕД/л на 40-й минуте отмечается

в дозе 170–510 U/l is manifested up to the 20th minute, and when using a dose of 1020 U/l – up to the 30th minute. Then there is a decrease in this effect. When using ISs at a dose of 170 U/l, at the 40th minute the left ventricle pressure indicators return to the baseline values, which are comparable with the indicators of the LVP of the control group at the 40th minute of the experiment. In groups of animals with perfusion of ISs at concentrations of 340–1020 U/l, there is a decrease in the LVP by the 40th minute, but the values of this parameter remain higher than in the control group.

## CONCLUSION

The data of the study demonstrate a positive inotropic effect of the isolated heart perfusion with ISs (thrombolytic drug, Trombovasim). The inotropic effect is dose-dependent at various time points. The positive inotropic effect combined with the direct thrombolytic effect of ISs makes it possible not only to prevent a decrease in cardiac output, but also to realize its increase in the setting of a regional (coronary) circulation accident caused by a critical event, for example, myocardial infarction.

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



**Рис. 7.** Динамика изменения ДЛЖ в опытных и контрольной группах в течение всего времени эксперимента  $\Delta T_{\text{ген}(0-40)}$   
**Fig. 7.** Dynamics of changes in the LVP in the experimental and control groups during the entire time of the experiment ( $\Delta T_{\text{ген}(0-40)}$ )

возврат показателей давления в левом желудочке к исходным значениям, которые сравнимы с показателями ДЛЖ контрольной группы на 40-й минуте эксперимента. В группах животных с перфузией ИмС в концентрациях 340–1020 ЕД/л отмечается снижение ДЛЖ к 40-й минуте, но значения этого показателя остаются выше по сравнению с контрольной группой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные проведенного исследования демонстрируют положительный инотропный эффект перфузии изолированного сердца ИмС (тромболи-

тический лекарственный препарат Тромбовазим). Инотропный эффект имеет дозозависимый характер в различных временных точках. Положительный инотропный эффект в совокупности с прямым тромболитическим действием ИмС дает возможность не только профилактировать снижение сердечного выброса, но и реализовать его увеличение на фоне катастрофы регионарного (коронарного) кровообращения, вызванной критическим инцидентом, например инфарктом миокарда.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Киктенко Н.В. Химические и фармакологические свойства субтилизинов // Сиб. науч. мед. журн. 2016;36(3):13–22.
2. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Киктенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов // Сиб. науч. мед. журн. 2016;36(4):15–23.
3. Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г. Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов // Journal

## REFERENCES

1. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Chemical and pharmacological properties of subtilisins. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(3):13–22.
2. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Targeted pharmacodynamic of subtilisins. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(4):15–23.
3. Mishenina S.V., Baikalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G. A rationale for application of immobilized subtilisiny for target therapy of

- of Siberian Medical Sciences. 2020;1:76–88. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88.
4. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Ройтман Е.В., Ищенко Н.А. Фармакологический тромболитик: что нового? // Тромбоз, гемостаз и реология. 2020;2(82):40–52. DOI: 10.25555/THR.2020.2.0917.
  5. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion // J. Mol. Cell. Cardiol. 2011;50(6):940–950. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018.
  6. Olejníčková V., Nováková M., Provazník I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances // Med. Biol. Eng. Comput. 2015;53(7):669–678. DOI: 10.1007/s11517-015-1270-2.
  7. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats // Methods Mol. Biol. 2018;1816:107–116. DOI: 10.1007/978-1-4939-8597-5\_8.
  8. Капелько В.И. Участие активных форм кислорода в саморегуляции сократительной функции сердца // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН. 2016;1(3):155–159.
  9. Князев Р.А., Трифонова Н.В., Рябченко А.В. и др. Исследование влияния рекомбинантного аполипопротеина А-I на работу сердечной мышцы в эксперименте // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2018;22(4):88–94. DOI: 10.21688/1681-3472-2018-4-88-94.
  10. Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Грамович В.В. и др. Сократительная функция изолированных сердец с сохраненной и сниженной фракцией изгнания in vivo // Кардиология. 2018;58(4):36–44. DOI: 10.18087/cardio.2018.4.10107.
  11. Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л. и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009;8(4):54–59. eLIBRARY ID: 15194884.
- venous thrombosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;1:76–88. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88.
4. Madonov P.G., Mishenina S.V., Roitman E.V., Ishchenko N.A. Pharmacological thrombolysis: what's new? *Thromboz, Gemostaz, Reologia*. 2020;2(82):40–52. DOI: 10.25555/THR.2020.2.0917.
  5. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2011;50(6):940–950. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018.
  6. Olejníčková V., Nováková M., Provazník I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med. Biol. Eng. Comput*. 2015;53(7):669–678. DOI: 10.1007/s11517-015-1270-2.
  7. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol*. 2018;1816:107–116. DOI: 10.1007/978-1-4939-8597-5\_8.
  8. Kapelko V.I. Participation of reactive oxygen species in the self-regulation of the cardiac contractile function. *Bull. of the East-Sib. Scientific Center*. 2016;1(3):155–159.
  9. Knyazev R.A., Trifonova N.V., Ryabchenko A.V. et al. Impact of recombinant apolipoprotein A-I on myocardial function in experiment. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2018;22(4):88–94. DOI: 10.21688/1681-3472-2018-4-88-94.
  10. Lakomkin V.L., Abramov A.A., Gramovich V.V. et al. Contractile function of isolated hearts with preserved and reduced ejection fraction in vivo. *Kardiologiya*. 2018;58(4):36–44. DOI: 10.18087/cardio.2018.4.10107.
  11. Minasian S.M., Galagudza M.M., Sonin D.L. et al. The technique of isolated rat heart perfusion. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2009;8(4):54–59. eLIBRARY ID: 15194884.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Байкалов Герман Игоревич** – ординатор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

**Леонов Николай Петрович** – старший научный сотрудник лаборатории фармацевтической технологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-4364-8937.

**Мадонов Павел Геннадьевич** – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государствен-

## ABOUT THE AUTHORS

**German I. Baikalov** – Resident, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

**Nikolay P. Leonov** – Senior Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology; Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia.

**Pavel G. Madonov** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Head, Department of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1093-8938.

ный медицинский университет» Минздрава России; руководитель отдела экспериментальной фармакологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1093-8938.

**Ершов Константин Игоревич** – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; старший научный сотрудник лаборатории фармацевтической технологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4139-036X.

**Бахарева Ксения Игоревна** – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

**Солдатова Марина Сергеевна** – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-1050-6921.

**Konstantin I. Ershov** – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Senior Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4139-036X.

**Kseniya I. Bakhareva** – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

**Marina S. Soldatova** – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1050-6921.



## Влияние фактора многоплодия при индуцированной беременности на перинатальные исходы

Д.А. Киншт<sup>1</sup>, И.О. Маринкин<sup>1</sup>, М.К. Соболева<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Медицинский центр «АВИЦЕННА» ГК «Мать и Дитя», г. Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В е д е н и е .** При индуцированной беременности (ИБ) важнейшим неблагоприятным фактором, влияющим на перинатальные исходы, является ятрогенное многоплодие. Активное внедрение в практику методик, снижающих риск многоплодия, с одной стороны, и ведение ИБ в специализированных медицинских центрах, имеющих опыт работы с данной категорией пациенток – с другой, могут улучшить перинатальные исходы.

**Ц е л ь .** Анализ перинатальных исходов при индуцированной одноплодной и многоплодной беременности с целью оценки вклада фактора многоплодия в неблагоприятные последствия для здоровья новорожденных и его актуальности для совершенствования вспомогательных репродуктивных технологий.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** Проведено ретроспективное исследование ante-, intra- и раннего неонатального периода у 672 детей, рожденных в условиях Медицинского центра «АВИЦЕННА» (г. Новосибирск) за период с 2006 по 2015 г. Общая выборка была разделена на 3 группы: 1-я – дети, рожденные от одноплодной ИБ ( $n = 345$ ); 2-я – дети, рожденные от многоплодной ИБ ( $n = 177$ ); 3-я – дети, рожденные от одноплодной спонтанной беременности (ОСБ,  $n = 150$ ) без бесплодия в анамнезе родителей, гравидность и паритет были равны. Использован клинично-анамнестический метод, с оценкой основных параметров состояния здоровья детей и родителей.

**Р е з у л ь т а т ы .** Выявлено, что при индуцированной многоплодной ИБ достоверно чаще ( $p < 0.001$ ) по сравнению с одноплодной ИБ диагностируются такие осложнения, как угроза прерывания и преждевременных родов, истмико-цервикальная недостаточность, преэклампсия и плацентарные нарушения. При этом в условиях специализированного центра большинство детей от ИБ было рождено доношенными, как при одноплодной (94.5 % случаев), так и при многоплодной (52.5 % случаев) беременностях. Любая индуцированная беременность относится к группе высокого акушерского риска, но своевременная коррекция осложнений значительно улучшает перинатальные исходы.

**З а к л ю ч е н и е .** ИБ относится к группе высокого акушерского риска, который значительно возрастает при многоплодной беременности. Ведение пары с бесплодием в анамнезе в условиях специализированного центра с обеспечением преемственности на всех этапах от момента обращения в клинику до рождения ребенка позволяет, несмотря на развитие осложнений, обеспечить рождение большинства детей при доношенных сроках (как при одноплодной, так и при многоплодной беременностях) и при одноплодной беременности приводит к рождению детей, по основным показателям здоровья схожих с детьми от спонтанно возникшей беременности.

**Ключевые слова:** многоплодие, индуцированная беременность, ВРТ, перинатальные исходы, здоровье новорожденных, ЭКО.

**Образец цитирования:** Киншт Д.А., Маринкин И.О., Соболева М.К. Влияние фактора многоплодия при индуцированной беременности на перинатальные исходы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):108–121. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-108-121

Поступила в редакцию 07.04.2022  
Прошла рецензирование 15.04.2022  
Принята к публикации 26.04.2022

Автор, ответственный за переписку  
Киншт Дарья Александровна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.  
E-mail: dkinsht@gmail.com

Received 07.04.2022  
Revised 15.04.2022  
Accepted 26.04.2022

Corresponding author  
Darya A. Kinsht: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: dkinsht@gmail.com

# The effect of multiple gestation on perinatal outcomes in assisted reproductive technology pregnancy

D.A. Kinsht<sup>1</sup>, I.O. Marinkin<sup>1</sup>, M.K. Soboleva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Medical Center AVICENNA, Group of Companies "Mother and Child", Novosibirsk, Russia

## ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** In assisted reproductive technology pregnancy (ARTP), the most unfavorable factor affecting perinatal outcomes is iatrogenic multiple gestation. Active introduction into practice of techniques that reduce the risk of multiple pregnancy, on the one hand, and management of ARTP in specialized medical centers with experience in working with this category of patients, on the other, can improve perinatal outcomes.

**A i m .** Analysis of perinatal outcomes in assisted singleton and multiple pregnancies in order to assess the contribution of the multiple gestation factor to adverse health outcomes for newborns, and its relevance for improving of assisted reproductive technology.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** A retrospective study of the ante-, intra- and early neonatal period was carried out in 672 infants born at the Medical Center AVICENNA (Novosibirsk) for the period from 2006 to 2015. The total sample was divided into 3 groups: 1st – infants from singleton ARTP ( $n = 345$ ); 2nd – infants from multiple ARTP ( $n = 177$ ); 3rd – infants from singleton spontaneous pregnancy (SSP) ( $n = 150$ ) without infertility in the parental history, gravidity and parity were equal. A clinical and anamnestic method was used, with an assessment of the main parameters of the health status of infants and parents.

**R e s u l t s .** It was revealed that complications such as threatened miscarriage and preterm labor, cervical insufficiency, preeclampsia, and placental disorders are diagnosed significantly more often in multiple ARTP ( $p < 0.001$ ) compared with singleton ARTP. At the same time, in the setting of a specialized center, the majority of infants from ARTP were full-term, both in singleton (94.5% of cases) and in multiple (52.5% of cases) pregnancies. Any assisted reproductive technology pregnancy belongs to the group of high obstetric risk, but timely correction of complications significantly improves perinatal outcomes.

**C o n c l u s i o n .** ARTP belongs to the group of high obstetric risk, which increases significantly with multiple gestation. Management of an infertile couple in a specialized center with continuity at all stages from the moment of contacting the clinic to the birth of a child allows, despite the development of complications, to ensure the birth of full-term infants (both in singleton and multiple pregnancies), and in singleton pregnancies it leads to the birth of children, in main health indicators similar to those from a spontaneous pregnancy.

**Keywords:** multiple pregnancy, assisted reproductive technology pregnancy, ARTP, perinatal outcomes, newborn health, *in vitro* fertilization.

**Citation example:** Kinsht D.A., Marinkin I.O., Soboleva M.K. The effect of multiple gestation on perinatal outcomes in assisted reproductive technology pregnancy. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):108–121. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-108-121

## ВВЕДЕНИЕ

Глобальная проблема бесплодия в настоящее время [1, 2] и активное развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) обуславливают необходимость поиска решений не только для наступления беременности как таковой, но и для улучшения перинатальных исходов индуцированной беременности (ИБ).

Любая индуцированная беременность в акушерстве относится к группе высокого риска, в связи с более зрелым возрастом родителей и отягощенным соматическим анамнезом к моменту наступления беременности [3–5]. Длительность бесплодия, имеющийся негативный репродуктивный опыт и связанные с этим фактором психоэ-

## INTRODUCTION

The current global problem of infertility [1, 2] and the active development of assisted reproductive technology (ART) necessitate finding solutions not only for to conceive as such, but also to improve the perinatal outcomes of assisted reproductive technology pregnancy (ARTP).

Any assisted reproductive technology pregnancy in obstetrics belongs to the high-risk group, due to advanced age of the parents and positive somatic health history at the time of pregnancy [3–5]. The duration of infertility, the negative reproductive experience and the psychoemotional characteristics of women associated with this factor can also affect the outcomes of ARTP [6, 7]. At the same time, most

моциональные особенности женщин также могут оказывать влияние на исходы ИБ [6, 7]. При этом большинство исследователей отмечают увеличение в разы негативных перинатальных исходов как для женщин, так и для детей при многоплодной ИБ (МИБ) [8–10]. При МИБ существенно возрастает и акушерский риск в связи с более частым развитием осложнений беременности, что затрудняет завершение беременности в срок [11–13]. Одним из ведущих неблагоприятных факторов, влияющих на состояние здоровья новорожденных при ИБ, в большинстве исследований также признается фактор многоплодия [14–17]. В то же время многоплодие в случаях ИБ является прямым и в настоящее время недостаточно контролируемым следствием применения собственно ВРТ, поэтому внедрение в практику методов, способных снизить риск наступления многоплодия в программах ВРТ, сохраняет свою актуальность.

В настоящее время согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 31.07.2020 № 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» допускается перенос не более 2 эмбрионов в полость матки [18]. Следует отметить, что и до издания этого приказа практика уменьшения числа переносимых эмбрионов при ВРТ активно применялась, что позволило существенно снизить процент многоплодия. Так, по данным отчета Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) за 2019 г. доля многоплодных родов в свежих циклах составляла 12.2 % для двоен и 0.2 % для троен, а для переноса размороженных эмбрионов – 11.5 и 0.2 % соответственно [19]. Для сравнения в 2007 г. эти показатели составляли 24.6/1.4 и 15.4/1.5 % соответственно [20]. Несмотря на то, что при ИБ процент многоплодия существенно превышает таковой в популяции, тенденция к снижению числа многоплодных беременностей при ВРТ представляется обнадеживающей в плане прогноза для здоровья матери и ребенка. В то же время, несмотря на имеющиеся подтверждения того, что при одноплодной ИБ риск осложнений как для женщины, ее вынашивающей, так и для здоровья новорожденных детей значительно снижается [21], тем не менее часть исследователей констатируют высокий риск неблагоприятных перинатальных исходов (преждевременных родов, неонатальной заболеваемости и смертности) при ИБ вне зависимости от количества плодов [22, 23].

Еще одним фактором, позволяющим снизить число неблагоприятных исходов ИБ, является

researchers note a several time increase in the adverse perinatal outcomes for both women and children in multiple ARTP (MARTP) [8–10]. In MARTP, the obstetric risk also increases significantly due to the more frequent development of pregnancy complications, which makes it difficult to complete the pregnancy on time [11–13]. One of the leading unfavorable factors affecting the health of newborns with ARTP is also recognized in most studies as the factor of multiple gestation [14–17]. At the same time, multiple gestation in cases of ARTP is a direct and currently insufficiently controlled consequence of the ART itself, so the introduction into practice of methods that can reduce the risk of multiple pregnancy in ART programs remains relevant.

Currently, according to the order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated July 31, 2020 No. 803n “On the procedure for using assisted reproductive technologies, contraindications and restrictions on their use”, transfer of no more than 2 embryos into the uterine cavity is allowed [18]. It should be noted that even before the issuance of this order, the practice of reducing the number of transferred embryos during ART was actively used, which made it possible to significantly reduce the percentage of multiple pregnancies. Thus, according to the 2019 report of the Russian Association of Human Reproduction (RAHR), the proportion of multiple births in fresh cycles was 12.2% for twins and 0.2% for triplets, and for the frozen-thawed embryo transfer – 11.5 and 0.2%, respectively [19]. For comparison, in 2007 these figures were 24.6/1.4 and 15.4/1.5%, respectively [20]. Despite the fact that the percentage of multiple gestations in ARTP significantly exceeds that in the population, the trend to a decrease in the number of multiple pregnancies with ART seems to be encouraging in terms of the prognosis for the maternal and infant health. At the same time, despite the available evidence that in singleton ARTP, the risk of complications for both woman and newborns is significantly reduced [21], nevertheless, some researchers state a high risk of adverse perinatal outcomes (premature birth, neonatal morbidity and mortality) in ARTP regardless of the number of fetuses [22, 23].

Another factor that can reduce the number of unfavorable outcomes of ARTP is the treatment of infertility, management of ARTP, and childbirth in specialized perinatal centers under the supervision of specialists with sufficient experience in management this category of patients [24, 25]. However, studies summarizing the data on the comprehensive interdisciplinary managing of a couple in the treat-

лечение бесплодия, ведение ИБ и роды в условиях специализированных перинатальных центров под наблюдением специалистов, обладающих достаточным опытом ведения данной категории пациентов [24, 25]. Однако исследования, обобщающие данные по комплексному междисциплинарному сопровождению пары при лечении бесплодия, течении беременности и родов, наблюдению за новорожденным, немногочисленны. Поэтому представляется актуальной оценка влияния фактора многоплодия на исходы ИБ, выраженность неблагоприятных последствий для здоровья новорожденных в сравнении с одноплодной ИБ по результатам комплексного сопровождения ИБ в условиях специализированного перинатального центра.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ перинатальных исходов при индуцированной одноплодной и многоплодной беременности с целью оценки вклада фактора многоплодия в неблагоприятные последствия для здоровья новорожденных и его актуальности для совершенствования вспомогательных репродуктивных технологий.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное исследование ante-, intra- и раннего неонатального периода у 672 детей, рожденных в условиях Медицинского центра (МЦ) «АВИЦЕННА» (г. Новосибирск) за период с 2006 по 2015 г. Общая выборка включала 3 группы: 1-я – дети, рожденные от одноплодной индуцированной беременности (ОИБ) ( $n = 345$ ); 2-я – дети, рожденные от многоплодной индуцированной беременности ( $n = 177$ ); 3-я – дети, рожденные от одноплодной спонтанной беременности (ОСБ,  $n = 150$ ) без бесплодия в анамнезе родителей, gravidность и паритет были равны. Использован клиничко-анамнестический метод, с оценкой основных параметров состояния здоровья женщин и детей.

Случаи эффективного лечения бесплодия с использованием репродуктивных технологий и течение беременности у женщин изучались в парах преимущественно жителей мегаполиса, без дефицита питания и в относительно однородной социальной группе. В большинстве случаев все этапы лечения бесплодия, ведения беременности и в 100 % случаев роды проходили в условиях одного центра. По данным родильного отделения МЦ «АВИЦЕННА», за период 2006–2015 гг. дети, рожденные от ИБ, составили 20.6 % от общего числа новорожденных. Критерии

ment of infertility, the course of pregnancy and childbirth, and monitoring the newborn are few. Therefore, it seems relevant to assess the impact of the multiple gestation factor on outcomes of ARTP, the severity of adverse health effects for newborns in comparison with singleton ARTP, based on the results of comprehensive management of ARTP in a specialized perinatal center.

### AIM OF THE RESEARCH

Comparative analysis of perinatal outcomes in assisted reproductive technology singleton and multiple pregnancies in order to assess the contribution of the multiple gestation factor to adverse consequences for newborns and its relevance for improving assisted reproductive technology.

### MATERIALS AND METHODS

A retrospective study of the ante-, intra- and early neonatal period of 672 infants born at the Medical Center (MC) AVICENNA (Novosibirsk) for the period from 2006 to 2015 was carried out. The total sample included 3 groups: 1st – infants from singleton assisted reproductive technology pregnancy (SARTP) ( $n = 345$ ); 2nd – infants from multiple assisted reproductive technology pregnancy ( $n = 177$ ); 3rd – infants from singleton spontaneous pregnancy (SSP) ( $n = 150$ ) without parental infertility; gravidity and parity were equal. A clinical and anamnestic method was used, with an assessment of the main parameters of the health status of women and children.

Cases of effective infertility treatment using reproductive technologies and the course of pregnancy in women were studied in couples predominantly residents of the metropolis, without nutritional deficiencies and in a relatively homogeneous social group. In most cases, all stages of infertility treatment, pregnancy management, and in 100% of cases, childbirth took place in one center. According to the labor and delivery unit of the MC AVICENNA for the period of 2006–2015, infants from ARTP accounted for 20.6% of the total number of newborns. Criteria for inclusion in the main groups: all infants from ARTP born in the specified period. Exclusion criteria: children from singleton spontaneous pregnancy that were conceived after the treatment of parental infertility. A retrospective analysis of prenatal records and birth histories ( $n = 582$ ), newborn histories ( $n = 672$ ) was performed. An analysis of 432 outpatient records of women who underwent infertility treatment at the MC AVICENNA made it possible to retrospectively evaluate their reproductive history.

включения в основные группы: все новорожденные от ИБ, рожденные в указанный период. Критерии исключения: дети, рожденные от одноплодной спонтанной беременности, наступившей после лечения бесплодия родителей. Был выполнен ретроспективный анализ обменных карт и историй родов ( $n = 582$ ), историй развития новорожденного ( $n = 672$ ). Анализ 432 амбулаторных карт женщин, которым проводилось лечение бесплодия в условиях МЦ «АВИ-ЦЕННА», позволил ретроспективно оценить репродуктивный анамнез.

Статистический анализ полученных результатов проводился при помощи пакета программ Statistica 7.0 (Statsoft, США). Для проверки гипотезы о принадлежности исследуемой выборки нормальному закону распределения использованы статистические критерии Шапиро – Уилка. Для количественных признаков рассчитывались среднее значение (M) и его среднеквадратичное отклонение (SD), для качественных – абсолютная величина ( $n$ ) и доля (%) от общего объема группы. Для оценки различий между группами по количественным переменным с нормальным распределением применялся  $t$ -критерий Стьюдента. Для оценки значимости распределения качественного признака между группами применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона или точный критерий Фишера. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке гипотез принимали равным 0.05 (при значении  $p$  меньше 0.001  $p$  указывали в формате  $p < 0.001$ ). Настоящее исследование одобрено комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 39 от 29.12.2011). Все пациенты подписали информированное согласие на обработку персональных данных. В работе были использованы деперсонализированные данные.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отрицательное влияние фактора многоплодия на течение беременности и здоровье новорожденных, вне зависимости от способа возникновения беременности, известно давно и было подтверждено в настоящем исследовании. Известно также, что любая ИБ в акушерстве относится к беременности высокого риска и протекает с осложнениями, в том числе и одноплодная, что может оказывать существенное влияние на перинатальные исходы. Поэтому был проведен сравнительный анализ осложнений течения ИБ, в зависимости от фактора многоплодия, а также анализ течения одноплодной беременности в зависимости от способа ее возникновения (табл. 1).

Statistical analysis of the data obtained was carried out using the Statistica 7.0 software package (Statsoft, USA). The Shapiro-Wilk test was used as a normality test. For quantitative traits, the mean value (M) and its standard deviation (SD) were calculated; for qualitative traits – the absolute value ( $n$ ) and rate (%) of the total volume of the group were calculated. The Student's  $t$ -test was used to assess differences between groups on quantitative variables with a normal distribution. To assess the significance of the distribution of a qualitative trait between groups, the Pearson's  $\chi^2$  test or the Fisher's exact test was used. The critical significance level ( $p$ ) for testing hypotheses was taken equal to 0.05 (for  $p$  values less than 0.001,  $p$  was indicated in the format of  $p < 0.001$ ). This study was approved by the ethics committee of the Novosibirsk State Medical University (protocol No. 39 dated December 29, 2011). All patients signed an informed consent to the processing of personal data. The depersonalized data were used in this research.

## RESULTS AND DISCUSSION

The negative impact of the multiple gestation factor on the course of pregnancy and the health of newborns, regardless of the mode of conception, has long been known and was confirmed in this study. It is also known that any ARTP in obstetrics is a high-risk pregnancy with complications, including singleton one, which can have a significant influence on perinatal outcomes. Therefore, a comparative analysis of the complications of the course of ARTP was carried out, depending on the multiple gestation factor, as well as an analysis of the course of a singleton pregnancy, depending on the mode of conception (Table 1).

The threatened miscarriage, which persists throughout the pregnancy, is more common in the group of women with MARTP: in 8 (13%), in the SARTP group – in 23 (6.7%) cases ( $p = 0.05$ ). However, with MARTP, only 1 pregnancy ended at 32 weeks of gestation, the rest – at a period of 34 weeks or more of gestation, and 2 of them at a period of 38 weeks. In the SARTP group, with a continuing risk of miscarriage throughout pregnancy, 20 (87%) pregnancies ended at term. In singleton pregnancy, there were no significant differences in the frequency of threatened miscarriage, which persisted throughout the entire period: in the SARTP group – in 23 (6.7%) cases, in the SSP group – in 4 (2.7%) cases ( $p = 0.07$ ).

The study confirmed that in multiple pregnancy the risk of adverse outcomes for the fetus is higher (antenatal fetal death (O36.4) in twins was regis-

**Таблица 1.** Структура осложнений беременности, абс. (%)  
**Table 1.** Structure of pregnancy complications, abs. (%)

Патология (код МКБ-10) Pathology (ICD-10 code)	Группа 1 – ОИБ Group 1 – SARTP (n = 345)	Группа 2 – МИБ Group 2 – MARTP (n = 87*)	Группа 3 – ОСБ Group 3 – SSP (n = 150)	p
Угроза прерывания беременности (О20.0) Threatened miscarriage of pregnancy (O20.0)	291 (87.5)	83 (95.4)	95 (63.3)	$p_{1-2} = 0.035$ $p_{1-3} = 0.035$
Угроза преждевременных родов (О47.0) Threatened of preterm labor (O47.0)	28 (8.1)	55 (63.2)	9 (6.0)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.414$
Преэклампсия (О14.0, О14.1) Preeclampsia (O14.0, O14.1)	41 (11.9)	29 (33.3)	32 (21.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.007$
Плацентарные нарушения (О43) Placental disorders (O43)	90 (26.1)	40 (46.0)	49 (32.7)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.134$
Истмико-цервикальная недостаточность (О34.3) Cervical insufficiency (O34.3)	47 (13.6)	36 (41.4)	8 (5.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.007$

Примечания: ОИБ – одноплодная индуцированная беременность; МИБ – многоплодная индуцированная беременность; ОСБ – одноплодная спонтанная беременность.

\* Количество женщин с МИБ.

Notes: SARTP – singleton assisted reproductive technology pregnancy; MARTP – multiple assisted reproductive technology pregnancy; SSP – spontaneous singleton pregnancy.

\* Number of women with MARTP.

Угроза прерывания беременности, сохраняющаяся в течение всей беременности, чаще встречается в группе женщин с МИБ: у 8 (13 %), в группе ОИБ – в 23 (6.7 %) случаях ( $p = 0.05$ ). Тем не менее при МИБ только 1 беременность завершилась при сроке 32 нед гестации, остальные – при сроке 34 нед и более гестации, а 2 из них при сроке 38 нед. В группе ОИБ, при сохраняющемся риске прерывания в течение всей беременности, 20 (87 %) беременностей завершилось в срок. При одноплодной беременности достоверных отличий по частоте угрозы прерывания беременности, сохраняющейся в течение всего периода, выявлено не было: в группе ОИБ – в 23 (6.7 %) случаях, в группе ОСБ – в 4 (2.7 %) ( $p = 0.07$ ).

Проведенное исследование подтвердило, что при МБ выше риск неблагоприятных исходов для плода (была зарегистрирована антенатальная гибель плода (О36.4) в двойне, второй ребенок был извлечен при сроке 34 нед гестации). Перинатальные исходы представлены в табл. 2.

Несмотря на то, что во время беременности не было выявлено достоверных различий по патологическим состояниям внутриутробного плода, связанным с функциональными нарушениями в плаценте, количество детей, рожденных с признаками нарушения внутриутробного роста, было выше в группе МИБ. При МИБ дети чаще рождались недоношенными, что требовало проведения интенсивной терапии в раннем неона-

теред, the second infant was removed at 34 weeks of gestation). Perinatal outcomes are presented in Table 2.

Despite the fact that during pregnancy, there were no significant differences in the pathological conditions of the fetus associated with functional disorders in the placenta, the number of infants born with signs of intrauterine growth disorders was higher in the MARTP group. With MARTP, children were more often born prematurely, which required intensive care in the early neonatal period. At the same time, it should be noted that most of the infants – 93 (52.5%) with MARTP were born at a gestational age of 37 weeks or more, including one triplet. The most early term delivery with MARTP was 29 weeks, the most late was 40.5 weeks. Birth injuries were represented by cephalohematomas, children were born during spontaneous and emergency operative delivery. In the AP group, regardless of the number of fetuses, the planned operative delivery prevails, which is consistent with the data of most studies [1, 13, 16, 17, 22], since the high cost of pregnancy is taken into account. Such tactic fully justifies itself, which was confirmed in our study, since it significantly reduces the number of children with asphyxia and neonatal aspiration syndromes, especially in singleton pregnancies.

The general condition of infants at birth and the main indicators of physical development are presented in Table 3. Severe condition at birth in full-

**Таблица 2.** Исходы беременности и ее осложнения, связанные с состоянием внутриутробного плода, абс. (%)  
**Table 2.** Pregnancy outcomes and its complications associated with the state of the fetus, abs. (%)

Патология (код МКБ-10) Pathology (ICD-10 code)	Группа 1 – ОИБ Group 1 – SARTP (n = 345)	Группа 2 – МИБ Group 2 – MARTP (n = 177)	Группа 3 – ОСБ Group 3 – SSP (n = 150)	p
<i>Осложнения беременности, связанные с состоянием внутриутробного плода Complications of pregnancy associated with the state of the fetus</i>				
Патологические состояния внутриутробного плода (О36.3, О36.5) Pathological conditions of the fetus (O36.3, O36.5)	42 (12.2)	29 (16.4)	33 (22.0)	$p_{1-2} = 0.185$ $p_{1-3} = 0.005$
<i>Исходы беременности / Pregnancy outcomes</i>				
Родоразрешение при сроке $\leq 37$ нед Delivery at $\leq 37$ weeks	19 (5.5)	84 (47.5)	4 (2.7)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.174$
Плановое оперативное родоразрешение Planned operative delivery	124 (35.9)	82 (46.3)	15 (10.0)	$p_{1-2} = 0.021$ $p_{1-3} < 0.001$
Экстренное оперативное родоразрешение Emergency operative delivery	68 (19.8)	89 (50.3)	24 (16.0)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.319$
Самопроизвольные роды Spontaneous delivery	153 (44.3)	6 (3.4)	111 (74.0)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} < 0.001$
Рождение маловесного плода (P05) (всего) Low birth weight fetus (P05) (total):	33 (9.6)	51 (28.8)	14 (9.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.917$
в том числе при сроке менее 37 нед including at less than 37 weeks	5 (15.1)	15 (29.4)	0	$p_{1-2} = 0.135$ $p_{1-3} = 0.128$
Внутриутробная гипоксия, асфиксия при родах (P20, P21) Intrauterine hypoxia, asphyxia at birth (P20, P21)	4 (1.2)	4 (2.3)	7 (4.7)	$p_{1-2} = 0.339$ $p_{1-3} = 0.017$
Неонатальные аспирационные синдромы (P24.0–8) Neonatal aspiration syndromes (P24.0–8)	10 (2.9)	2 (1.1)	10 (6.7)	$p_{1-2} = 0.194$ $p_{1-3} = 0.049$
Родовая травма (P10–P15) Birth injury (P10–P15)	17 (4.9)	0	2 (1.3)	$p_{1-2} = 0.003$ $p_{1-3} = 0.055$
Госпитализация новорожденного в отделение реанимации (всего) Hospitalization of a newborn to the intensive care unit (total):	41 (11.9)	75 (42.4)	23 (15.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.301$
в том числе при сроке менее 37 нед including at less than 37 weeks	14 (34.1)	65 (86.7)	4 (1.7)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.003$

Примечание. ОИБ – одноплодная индуцированная беременность; МИБ – многоплодная индуцированная беременность; ОСБ – одноплодная спонтанная беременность.

Note. SARTP – singleton assisted reproductive technology pregnancy; MARTP – multiple assisted reproductive technology pregnancy; SSP – spontaneous singleton pregnancy.

тальном периоде. При этом стоит отметить, что большая часть детей – 93 (52.5 %) при МИБ были рождены при сроках гестации 37 нед и более, в том числе одна тройня. Минимальный срок родоразрешения при МИБ составил 29 нед, максимальный – 40.5 нед. Родовые травмы представлены кефалогематомами, дети были рождены при самопроизвольных и экстренных оперативных родах. В группе ИБ, вне зависимости от количества плодов, преобладает плановое оператив-

term newborns is due to a systemic infectious process (3 cases), congenital pneumonia (3 cases) and aspiration syndrome (1 case). In premature newborns from MARTP, a severe condition was more often registered at birth: 48 (57.2%) cases, with SARTP – 5 (26.3%) ( $p = 0.015$ ). Data on premature infants due to the small number of observations in the group of spontaneous pregnancy (SP) cannot be reliable, however, it is noteworthy that not a single child in the SSP group was born in a satisfactory con-

ное родоразрешение, что согласуется с данными большинства исследований [1, 13, 16, 17, 22], поскольку учитывается высокая цена достигнутой беременности. Эта тактика полностью себя оправдывает, что было подтверждено в данном исследовании, поскольку существенно уменьшает количество детей, рожденных в асфиксии и с неонатальными аспирационными синдромами, особенно при одноплодной беременности.

Общее состояние детей при рождении и основные показатели физического развития представлены в табл. 3. Тяжелое состояние при рождении

while in the group of children from SARTP were 5 such infants (26.3%). Indicators of physical development (except for body weight) in preterm infants from ARTP did not differ. The average body weight was significantly lower in infants from MARTP – 2158.1 g, in SARTP – 2457.4 g ( $p = 0.011$ ).

As a result of the study, it was found that by the time of birth, the total number of infants, regardless of gestational age, with growth retardation and malnutrition, also prevailed in the MARTP group: 46 (26%) infants, in the SARTP group – 32 (9.3%) infants ( $p < 0.001$ ), but among preterm infants, the data were

**Таблица 3.** Параметры физического развития и общее состояние детей при рождении, М (SD)  
**Table 3.** Indicators of physical development and general condition of infants at birth, M (SD)

Показатель Indicator	Группа 1 – ОИБ Group 1 – SARTP (n = 345)	Группа 2 – МИБ Group 2 – MARTP (n = 177)	Группа 3 – ОСБ Group 3 – SSP (n = 150)	p
<i>Доношенные новорожденные / Full-term newborns</i>				
	n = 326	n = 93	n = 146	–
Срок родоразрешения, нед Term delivery, weeks	39.2 (1.0)	37.9 (0.8)	39.5 (1.0)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.029$
Оценка по шкале Апгар / Apgar score:				
1-я минута at 1 min	7.9 (0.6)	7.8 (0.5)	7.7 (0.7)	$p_{1-2} = 0.129$ $p_{1-3} = 0.014$
5-я минута at 5 min	8.6 (0.6)	8.5 (0.6)	8.5 (0.7)	$p_{1-2} = 0.105$ $p_{1-3} = 0.066$
Состояние при рождении, абс. (%) Condition at birth, abs. (%):				
удовлетворительное satisfactory	303 (92.9)	68 (73.1)	130 (89.0)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.156$
средней степени тяжести moderate severity	17 (5.2)	24 (25.8)	10 (6.8)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.488$
тяжелое severe	6 (1.9)	1 (1.1)	6 (4.2)	$p_{1-2} = 0.601$ $p_{1-3} = 0.148$
Масса тела, г / Body weight, g	3490.2 (476.9)	2763.6 (350.0)	3450.5 (443.7)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.393$
Длина тела, см / Body length, cm	52.8 (2.2)	49.0 (2.0)	52.6 (2.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.343$
Окружность головы, см Head circumference, cm	34.7 (1.3)	33.4 (1.2)	34.3 (1.4)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.005$
Окружность груди, см Chest circumference, cm	34.1 (0.6)	31.6 (1.1)	33.7 (1.6)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.013$
<i>Недоношенные новорожденные / Preterm newborns</i>				
	n = 19	n = 84	n = 4	–
Срок родоразрешения, нед Term delivery, weeks	35.3 (0.7)	34.4 (1.9)	34.6 (1.2)	$p_{1-2} = 0.036$ $p_{1-3} = 0.130$
Оценка по шкале Апгар / Apgar score:				
1-я минута / at 1 min	7.4 (0.5)	7.2 (0.7)	6.8 (0.5)	$p_{1-2} = 0.262$ $p_{1-3} = 0.034$
5-я минута / at 5 min	8.0 (0.2)	7.8 (0.6)	7.6 (0.5)	$p_{1-2} = 0.033$ $p_{1-3} = 0.066$

П р и м е ч а н и е . ОИБ – одноплодная индуцированная беременность; МИБ – многоплодная индуцированная беременность; ОСБ – одноплодная спонтанная беременность.

N o t e . SARTP – singleton assisted reproductive technology pregnancy; MARTP – multiple assisted reproductive technology pregnancy; SSP – spontaneous singleton pregnancy.

у доношенных новорожденных обусловлено течением генерализованного инфекционного процесса (3 случая), врожденной пневмонией (3 случая) и аспирационным синдромом (1 случай). У недоношенных новорожденных от МИБ чаще было зарегистрировано тяжелое состояние при рождении: 48 (57.2 %) случаев, при ОИБ – 5 (26.3 %) ( $p = 0.015$ ). Данные по недоношенным детям в силу малочисленности наблюдений в группе спонтанной беременности (СБ) не могут быть достоверными, тем не менее обращает на себя внимание, что ни один ребенок в группе ОСБ не был рожден в удовлетворительном состоянии, в то время как в группе детей от ОИБ таких детей было 5 (26.3 %). Параметры физического развития (кроме массы тела) у недоношенных новорожденных от ИБ не имели различий. Средняя масса тела была достоверно меньше у детей от МИБ – 2158.1 г, при ОИБ – 2457.4 г ( $p = 0.011$ ).

В результате исследования было выявлено, что к моменту рождения общее количество детей, вне зависимости от срока гестации, имеющих замедление роста и недостаточность питания, также преобладало в группе МИБ: 46 (26 %) детей, в группе ОИБ – 32 (9.3 %) ребенка ( $p < 0.001$ ), но при этом среди недоношенных новорожденных данные были сравнимы (табл. 4). Среди детей от МИБ, развивавшихся в одинаковых условиях, число детей с задержкой внутриутробного развития преобладает в группе доно-

comparable (Table 4). Among children from MARTP who developed under the same conditions, the number of infants with intrauterine growth retardation prevails in the group of full-term newborns ( $p = 0.003$ ), which is also quite understandable, since the needs of the fetus increase significantly in the late fetal period. The study showed that in singleton pregnancy there are no differences in the frequency of intrauterine growth retardation and fetal malnutrition in the comparison groups, which contradicts the data of many studies noting a greater number of low birth weight infants with any ARTP [14, 26, 27].

An analysis of the structure of diseases and pathological conditions in newborns (Table 5) showed that the MARTP group was dominated by pathological conditions characteristic of preterm children: respiratory distress syndrome, neonatal jaundice, and intraventricular hemorrhages. When analyzing the general condition at birth, it was revealed that children from MARTP are less tolerant to the birth process even at full term: every fourth infant is born in a state of moderate severity and endures the period of early adaptation worse, which manifests itself in transient disorders of the brain status in newborns (cerebral ischemia) in the form of a hyperexcitability syndrome, more common in this group. There were no significant differences in the main diseases in the early neonatal period in children from singleton pregnancy, with the exception of disorders of the brain status (in the form of cerebral ischemia), asso-

**Таблица 4.** Замедление роста и недостаточность питания у новорожденных, абс. (%)  
**Table 4.** Growth retardation and malnutrition in newborns, abs. (%)

Показатель / Indicator	Группа 1 – ОИБ Group 1 – SARTP (n = 345)	Группа 2 – МИБ Group 2 – MARTP (n = 177)	p
<i>Доношенные новорожденные / Full-term newborns</i>			
	<i>n = 326</i>	<i>n = 93</i>	
Всего случаев замедления роста и недостаточности питания Total cases of growth retardation and malnutrition:	27 (8.3)	33 (35.5)	<0.001
маловесный для ГВ* плод (P05.0) low weight fetus for gestational age (P05.0)	17 (63.0)	18 (54.5)	0.510
малый размер плода для ГВ* (P05.1) small fetus size for gestational age (P05.1)	10 (37.0)	15 (45.5)	0.510
<i>Недоношенные новорожденные / Preterm newborns</i>			
	<i>n = 19</i>	<i>n = 84</i>	
Всего случаев замедления роста и недостаточности питания Total cases of growth retardation and malnutrition:	5 (26.3)	13 (15.5)	0.265
маловесный для гестационного возраста плод (P05.0) low weight fetus for gestational age (P05.0)	3 (60.0)	9 (69.2)	0.719
малый размер плода для гестационного возраста (P05.1) small fetus size for gestational age (P05.1)	2 (40.0)	4 (30.8)	0.719

Примечание. ОИБ – одноплодная индуцированная беременность; МИБ – многоплодная индуцированная беременность.  
Note. SARTP – singleton assisted reproductive technology pregnancy; MARTP – multiple assisted reproductive technology pregnancy.

шенных новорожденных ( $p = 0.003$ ), что также вполне объяснимо, поскольку в позднем фетальном периоде существенно возрастают потребности плода. В исследовании было показано, что при одноплодной беременности нет отличий по частоте замедления внутриутробного роста и нарушений питания плода в группах сравнения, что противоречит данным многих исследований, отмечающих большее количество маловесных детей при любой ИБ [14, 26, 27].

Анализ структуры заболеваний и патологических состояний у новорожденных (табл. 5) показал, что в группе МИБ преобладают патологические состояния, характерные для недоношенных: респираторный дистресс-синдром, неонатальные желтухи, внутрижелудочковые кровоизлияния. При анализе общего состояния при рождении выявлено, что дети от МИБ менее толерантны к процессу родов даже при доношенном сроке: каждый четвертый ребенок рождается в состоянии средней степени тяжести и хуже переносит период ранней адаптации, что проявляется в преходящих нарушениях церебрального статуса у новорожденных (церебральной ишемии) в виде синдрома гипервозбудимости, чаще встречающихся в этой группе. Достоверных отличий по основным заболеваниям в раннем неонатальном периоде у детей от одноплодной беременности выявлено не было, за исключением нарушений церебрального статуса (в виде церебральной ишемии), связанной с более частым рождением детей в группе от ОСБ в асфиксии и с аспирационными синдромами. Общее количество аномалий и врожденных пороков развития в группах не отличается и находится в пределах общепопуляционных значений.

У доношенных новорожденных от МИБ средняя продолжительность пребывания в стационаре была достоверно выше по сравнению с детьми от одноплодной беременности, составив 6.2 (2.2) дня ( $p < 0.001$ ). При одноплодной беременности, вне зависимости от способа ее возникновения, количество койко-дней не отличалось: ОИБ – 4.7 (1.7) дня, ОСБ – 4.6 (1.4) дня. В группе недоношенных новорожденных достоверных отличий в длительности пребывания в стационаре выявлено не было.

Таким образом, в настоящем исследовании было подтверждено, что при одинаковом способе возникновения беременности основным негативным фактором, влияющим на перинатальные исходы, является многоплодие, что согласовывается с данными большинства исследований [11–17]. Индуцированная многоплодная беременность

связана с более частым рождением младенцев в группе от SSP с асфиксией и аспирационными синдромами. The total number of abnormal development cases and congenital malformations in the groups does not differ and is within the general population values.

In full-term newborns from MARTP, the average length of hospital stay was significantly higher compared to infants from singleton pregnancies, amounting to 6.2 (2.2) days ( $p < 0.001$ ). In singleton pregnancy, regardless of the mode of conception, the number of bed-days did not differ: SARTP – 4.7 (1.7) days, SSP – 4.6 (1.4) days. In the group of premature newborns, there were no significant differences in the length of hospital stay.

Thus, in the present study, it was confirmed that in the same mode of conception, the main negative factor affecting perinatal outcomes is multiple gestation, which is consistent with the data of most studies [11–17]. ARTP was complicated much more often, ends with premature birth which affects the condition of newborns with characteristic pathological states and diseases associated with prematurity. This also affects their condition at birth and is the main reason for intensive care in the early neonatal period, which leads to a longer stay of infants in a hospital. At the same time, the management of MARTP in a specialized center allows the majority of infants to be born at full-term gestation, which is essentially important for their further growth and development.

The data obtained showed that, despite the fact that ART pregnancy belongs to a high-risk group and is more often accompanied with complications, its management in a specialized center allows most children to be born at full-term in singleton pregnancies and do not differ in basic characteristics from children born from spontaneous pregnancy, which also contradicts the data of a number of studies [22, 23]. The chosen tactics of labor management with a predominance of planned operative delivery in ART allows children to be born in a satisfactory condition and reduce the number of infants born with asphyxia and aspiration syndromes.

## CONCLUSION

ART pregnancy belongs to the group of high obstetric risk, which increases significantly with multiple pregnancy. Management of an infertile couple in a specialized center with continuity at all stages from the moment of contacting the clinic to the birth of a child allows, despite the development of complications, to ensure the birth of most infants

**Таблица 5.** Структура заболеваний и патологических состояний у детей в раннем неонатальном периоде, абс. (%)  
**Table 5.** Structure of diseases and pathological conditions in infants in the early neonatal period, abs. (%)

Заболевание/состояние (код МКБ-10) Disease/state (ICD-10 code)	Группа 1 – ОИБ Group 1 – SARTP (n = 345)	Группа 2 – МИБ Group 2 – MARTP (n = 177)	Группа 3 – ОСБ Group 3 – SSP (n = 150)	p
Респираторные нарушения, возникшие в перинатальном периоде (P22–P24) Respiratory disorders in the perinatal period (P22–P24)	30 (8.7)	67 (36.9)	17 (11.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.364$
Синдром новорожденного от матери с диабетом (P70.0, P70.1) Newborn syndrome of the diabetic mother (P70.0, P70.1)	3 (0.9)	0	0	$p_{1-2} = 0.206$ $p_{1-3} = 0.244$
Другие нарушения церебрального статуса новорожденного (P91) Other disorders of the newborn's brain status (P91)	41 (11.9)	63 (35.6)	32 (21.3)	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} = 0.007$
Внутрижелудочковые кровоизлияния (P52) Intraventricular hemorrhages (P52)	11 (3.2)	14 (7.9)	6 (4)	$p_{1-2} = 0.017$ $p_{1-3} = 0.654$
Гемолитическая болезнь плода и новорожденного (P55–P57) Hemolytic disease of the fetus and newborn (P55–P57)	11 (3.2)	1 (0.6)	5 (3.3)	$p_{1-2} = 0.062$ $p_{1-3} = 0.953$
Инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода (P35–P39) Perinatal specific infectious diseases (P35–P39)	22 (6.4)	6 (3.4)	9 (6.0)	$p_{1-2} = 0.151$ $p_{1-3} = 0.866$
Неонатальная желтуха, обусловленная чрезмерным гемолизом, другими и неуточненными причинами (P58–P59) Neonatal jaundice caused by excessive hemolysis, other and unspecified causes (P58–P59)	26 (7.5)	28 (15.8)	8 (5.3)	$p_{1-2} = 0.003$ $p_{1-3} = 0.373$
Аномалии развития (Q00–Q99) (всего) Abnormal development (Q00–Q99) (total)	63 (18.3)	45 (25.4)	29 (19.3)	$p_{1-2} = 0.058$ $p_{1-3} = 0.792$
Врожденные пороки развития, подлежащие обязательной регистрации согласно Приказу МЗ РФ № 268 (от 10.09.1998) Congenital malformations subject to mandatory registration, according to the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 268 (from 10.09.1998)	12 (3.5)	6 (3.4)	7 (4.7)	$p_{1-2} = 0.952$ $p_{1-3} = 0.523$

Примечание. ОИБ – одноплодная индуцированная беременность; МИБ – многоплодная индуцированная беременность; ОСБ – одноплодная спонтанная беременность.  
Note. SARTP – singleton assisted reproductive technology pregnancy; MARTP – multiple assisted reproductive technology pregnancy; SSP – spontaneous singleton pregnancy.

значительно чаще протекает с осложнениями, завершается преждевременными родами, что сказывается на состоянии новорожденных детей, имеющих характерные патологические состояния и заболевания, связанные с недоношенностью. Это же отражается и на их состоянии при рождении и является основной причиной проведения интенсивной терапии в раннем неонатальном периоде, что приводит к более длительному пребыванию детей в условиях стационара. В то же время веде-

at full-term (both in singleton and multiple pregnancies), and in a singleton pregnancy, it leads to the birth of children, according to the main indicators of health, similar to children from a spontaneous pregnancy.

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

**Research funding.** The research was carried out without financial support.

ние МИБ в условиях специализированного центра позволяет родиться большинству детей при доношенных сроках гестации, что принципиально важно для их дальнейшего роста и развития.

Полученные данные показали, что, несмотря на то, что индуцированная беременность относится к группе высокого риска и чаще сопровождается осложнениями, ее медицинское сопровождение в условиях специализированного центра позволяет при одноплодной беременности большинству детей рождаться в срок и по основным характеристикам не отличаться от новорожденных, родившихся от спонтанно возникшей беременности, что также противоречит данным ряда исследований [22, 23]. Выбранная тактика ведения родов с преобладанием планового оперативного родоразрешения при индуцированной беременности позволяет родиться детям в удовлетворительном состоянии и уменьшить число детей, рожденных в асфиксии и с аспирационными синдромами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Luke B. Pregnancy and birth outcomes in couples with infertility with and without assisted reproductive technology: with an emphasis on US population-based studies // *Am. J. Obstet Gynecol.* 2017;217(3):270–281. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.03.012.
2. Fledderjohann J., Barnes L.W. Reimagining infertility: a critical examination of fertility norms, geopolitics and survey bias // *Health Policy Plan.* 2018;33(1):34–40. DOI: 10.1093/heapol/czx148.
3. Kalayci H., Özdemir H., Alkaş D., Çok T., Tarim E. Is primiparity a risk factor for advanced maternal age pregnancies? // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017;30(11):12831287. DOI: 10.1080/14767058.2016.1211633.
4. Pinheiro R.L., Areia A.L., Pinto A.M., Donato H. Advanced maternal age: adverse outcomes of pregnancy, a meta-analysis // *Acta Med. Port.* 2019;32(3):219–226. DOI: 10.20344/amp.11057.
5. Wang Y., Shi H., Chen L. et al. Absolute risk of adverse obstetric outcomes among twin pregnancies after in vitro fertilization by maternal age // *JAMA Netw. Open.* 2021;4(9):e2123634. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.23634.
6. Swift A., Reis P., Swanson M. Infertility-related stress and quality of life in women experiencing concurrent reproductive trauma // *J. Psychosom. Obstet. Gynaecol.* 2021;1–6. DOI: 10.1080/0167482X.2021.2008901.
7. Pedro J., Vassard D., Mallin G.M.H. et al. Infertility-related stress and the risk of antidepressants prescription in women: a 10-year register study // *Hum. Reprod.* 2019;34(8):1505–1513. DOI: 10.1093/humrep/dez110.
8. Лучко С.А., Михалевич С.И. Многоплодие после применения методов вспомогательной репродукции. Спорные вопросы // *Мед. новости.* 2018;4(283):21–23. eLIBRARY ID: 34878639.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индукцированная беременность относится к группе высокого акушерского риска, который значительно возрастает при многоплодной беременности. Ведение пары с бесплодием в анамнезе в условиях специализированного центра с обеспечением преемственности на всех этапах от момента обращения в клинику до рождения ребенка позволяет, несмотря на развитие осложнений, обеспечить рождение большинства детей при доношенных сроках (как при одноплодной, так и при многоплодной беременностях) и при одноплодной беременности приводит к рождению детей, по основным показателям здоровья схожих с детьми от спонтанно возникшей беременности.

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

**Финансирование.** Исследование проведено без финансовой поддержки.

## REFERENCES

1. Luke B. Pregnancy and birth outcomes in couples with infertility with and without assisted reproductive technology: with an emphasis on US population-based studies. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2017;217(3):270–281. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.03.012.
2. Fledderjohann J., Barnes L.W. Reimagining infertility: a critical examination of fertility norms, geopolitics and survey bias. *Health Policy Plan.* 2018;33(1):34–40. DOI: 10.1093/heapol/czx148.
3. Kalayci H., Özdemir H., Alkaş D., Çok T., Tarim E. Is primiparity a risk factor for advanced maternal age pregnancies? *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017;30(11):12831287. DOI: 10.1080/14767058.2016.1211633.
4. Pinheiro R.L., Areia A.L., Pinto A.M., Donato H. Advanced maternal age: adverse outcomes of pregnancy, a meta-analysis. *Acta Med. Port.* 2019;32(3):219–226. DOI: 10.20344/amp.11057.
5. Wang Y., Shi H., Chen L. et al. Absolute risk of adverse obstetric outcomes among twin pregnancies after in vitro fertilization by maternal age. *JAMA Netw. Open.* 2021;4(9):e2123634. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.23634.
6. Swift A., Reis P., Swanson M. Infertility-related stress and quality of life in women experiencing concurrent reproductive trauma. *J. Psychosom. Obstet. Gynaecol.* 2021;1–6. DOI: 10.1080/0167482X.2021.2008901.
7. Pedro J., Vassard D., Mallin G.M.H. et al. Infertility-related stress and the risk of antidepressants prescription in women: a 10-year register study. *Hum. Reprod.* 2019;34(8):1505–1513. DOI: 10.1093/humrep/dez110.
8. Luchko S.A., Mikhalevich S.I. Multiple fertility after the application of assisted reproduction techniques. Controversial issue. *Meditinskije Novosti.* 2018;4(283):21–23. eLIBRARY ID: 34878639. (In Russ.)

9. Oberg A.S., VanderWeele T.J., Almquist C., Hernández-Díaz S. Pregnancy complications following fertility treatment – disentangling the role of multiple gestation // *Int. J. Epidemiol.* 2018;47(4):1333–1342. DOI: 10.1093/ije/dyy103.
10. Yang M., Fan X.B., Wu J.N., Wang J.M. Association of assisted reproductive technology and multiple pregnancies with the risks of birth defects and stillbirth: A retrospective cohort study // *Sci. Rep.* 2018;8(1):8296. DOI: 10.1038/s41598-018-26567-2.
11. Santana D.S., Surita F.G., Cecatti J.G. Multiple pregnancy: epidemiology and association with maternal and perinatal morbidity // *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2018;40(9):554–562. DOI: 10.1055/s-0038-1668117.
12. Aviram A., Berger H., Abdulaziz K.E. et al. Outcomes associated with hypertensive disorders of pregnancy in twin compared with singleton gestations // *Obstet. Gynecol.* 2021;138(3):449–458. DOI: 10.1097/AOG.0000000000004506.
13. Sunderam S., Kissin D.M., Crawford S.B. et al. Assisted reproductive technology surveillance – United States, 2015 // *MMWR Surveill Summ.* 2018;67(3):1–28. DOI: 10.15585/mmwr.ss6703a1.
14. Малышкина А.И., Матвеева Е.А., Филькина О.М., Ермакова И.С. Состояние здоровья детей первого года жизни, родившихся после экстракорпорального оплодотворения // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.* 2019;64(1):39–45. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-39-45.
15. Zheng Z., Chen L., Yang T. et al. Multiple pregnancies achieved with IVF/ICSI and risk of specific congenital malformations: a meta-analysis of cohort studies // *Reprod. Biomed. Online.* 2018;36(4):472–482. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.01.009.
16. Wennerholm U., Bergh C. Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies // *Ups. J. Med. Sci.* 2020;125(2):158–166. DOI: 10.1080/03009734.2020.1726534.
17. Sunderam S., Kissin D.M., Zhang Y. et al. Assisted reproductive technology surveillance – United States, 2018 // *MMWR Surveill Summ.* 2022;71(4):1–19. DOI: 10.15585/mmwr.ss7104a1.
18. О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению: Приказ МЗ РФ от 31.07.2020 № 803н. URL: [https://rahr.ru/d\\_index/0001202010190041.pdf](https://rahr.ru/d_index/0001202010190041.pdf) (дата обращения: 08.04.2022).
19. Российская ассоциация репродукции человека. Регистр ВРТ. Отчет за 2019 год. URL: [https://www.rahr.ru/d\\_registr\\_otchet/RegistrART2019.pdf](https://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrART2019.pdf) (дата обращения: 08.04.2022).
20. Российская ассоциация репродукции человека. Регистр ВРТ. Отчет за 2007 год. URL: [http://www.rahr.ru/d\\_registr\\_otchet/otchet2007.pdf](http://www.rahr.ru/d_registr_otchet/otchet2007.pdf) (дата обращения: 08.04.2022).
21. Martin A.S., Chang J., Zhang Y. et al. Perinatal outcomes among singletons after assisted reproductive technology with single-embryo or double-embryo transfer versus no assisted reproductive technology // *Fertil. Steril.* 2017;107(4):954–960. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.01.024.
22. Stern J.E., Liu C.L., Cabral H.J. et al. Birth outcomes of singleton vaginal deliveries to ART-treated, subfertile, and fertile primiparous women. *J. Assist. Reprod.*
9. Oberg A.S., VanderWeele T.J., Almquist C., Hernández-Díaz S. Pregnancy complications following fertility treatment – disentangling the role of multiple gestation. *Int. J. Epidemiol.* 2018;47(4):1333–1342. DOI: 10.1093/ije/dyy103.
10. Yang M., Fan X.B., Wu J.N., Wang J.M. Association of assisted reproductive technology and multiple pregnancies with the risks of birth defects and stillbirth: A retrospective cohort study. *Sci. Rep.* 2018;8(1):8296. DOI: 10.1038/s41598-018-26567-2.
11. Santana D.S., Surita F.G., Cecatti J.G. Multiple pregnancy: epidemiology and association with maternal and perinatal morbidity. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2018;40(9):554–562. DOI: 10.1055/s-0038-1668117.
12. Aviram A., Berger H., Abdulaziz K.E. et al. Outcomes associated with hypertensive disorders of pregnancy in twin compared with singleton gestations. *Obstet. Gynecol.* 2021;138(3):449–458. DOI: 10.1097/AOG.0000000000004506.
13. Sunderam S., Kissin D.M., Crawford S.B. et al. Assisted reproductive technology surveillance – United States, 2015. *MMWR Surveill Summ.* 2018;67(3):1–28. DOI: 10.15585/mmwr.ss6703a1.
14. Malyshkina A.I., Matveeva E.A., Filkina O.M., Ermakova I.S. The health status of children born after in vitro fertilization in their first 12 months of life. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii.* 2019;64(1):39–45. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-39-45. (In Russ.)
15. Zheng Z., Chen L., Yang T. et al. Multiple pregnancies achieved with IVF/ICSI and risk of specific congenital malformations: a meta-analysis of cohort studies. *Reprod. Biomed. Online.* 2018;36(4):472–482. DOI: 10.1016/j.rbmo.2018.01.009.
16. Wennerholm U., Bergh C. Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies. *Ups. J. Med. Sci.* 2020;125(2):158–166. DOI: 10.1080/03009734.2020.1726534.
17. Sunderam S., Kissin D.M., Zhang Y. et al. Assisted reproductive technology surveillance – United States, 2018. *MMWR Surveill Summ.* 2022;71(4):1–19. DOI: 10.15585/mmwr.ss7104a1.
18. On the procedure for the use of assisted reproductive technologies, contraindications and restrictions to their use: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated July 31, 2020 No. 803н. URL: [https://rahr.ru/d\\_index/0001202010190041.pdf](https://rahr.ru/d_index/0001202010190041.pdf) (accessed 08.04.2022).
19. Russian Association of Human Reproduction. ART Register. 2019 Report. URL: [https://www.rahr.ru/d\\_registr\\_otchet/RegistrART2019.pdf](https://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrART2019.pdf) (accessed 08.04.2022).
20. Russian Association of Human Reproduction. ART Register. 2007 Report. URL: [http://www.rahr.ru/d\\_registr\\_otchet/otchet2007.pdf](http://www.rahr.ru/d_registr_otchet/otchet2007.pdf) (accessed 08.04.2022).
21. Martin A.S., Chang J., Zhang Y. et al. Perinatal outcomes among singletons after assisted reproductive technology with single-embryo or double-embryo transfer versus no assisted reproductive technology. *Fertil. Steril.* 2017;107(4):954–960. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.01.024.
22. Stern J.E., Liu C.L., Cabral H.J. et al. Birth outcomes of singleton vaginal deliveries to ART-treated, subfertile, and fertile primiparous women. *J. Assist. Reprod.*

- and fertile primiparous women // J. Assist. Reprod. Genet. 2018;35(9):1585–1593. DOI: 10.1007/s10815-018-1238-x.
23. Hwang S.S., Dukhovny D., Gopal D. et al. Health of infants after ART-treated, subfertile, and fertile deliveries // *Pediatrics*. 2018;142(2):e20174069. DOI: 10.1542/peds.2017-4069.
  24. De Geyter C., Calhaz-Jorge C., Kupka M.S. et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) // *Hum. Reprod.* 2018;33(9):1586–1601. DOI: 10.1093/humrep/dey242.
  25. Qin J.B., Sheng X.Q., Wu D. et al. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes among singleton pregnancies after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017;295(2):285–301. DOI: 10.1007/s00404-016-4250-3.
  26. Кислюк Г.И., Кочугова Е.И., Бунина А.Д. Особенности течения перинатального и неонатального периода у детей, рожденных после процедуры экстракорпорального оплодотворения // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии*. 2017;62(4):148. eLIBRARY ID: 29937189.
  27. Von Wolff M., Haaf T. In vitro fertilization technology and child health // *Dtsch. Arztebl. Int.* 2020;117(3):23–30. DOI: 10.3238/arztebl.2020.0023.
  28. Hwang S.S., Dukhovny D., Gopal D. et al. Health of infants after ART-treated, subfertile, and fertile deliveries. *Pediatrics*. 2018;142(2):e20174069. DOI: 10.1542/peds.2017-4069.
  29. De Geyter C., Calhaz-Jorge C., Kupka M.S. et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum. Reprod.* 2018;33(9):1586–1601. DOI: 10.1093/humrep/dey242.
  30. Qin J.B., Sheng X.Q., Wu D. et al. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes among singleton pregnancies after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017;295(2):285–301. DOI: 10.1007/s00404-016-4250-3.
  31. Кислюк Г.И., Кочугова Е.И., Бунина А.Д. Characteristics of the perinatal and neonatal periods in infants born after *in vitro* fertilization. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii*. 2017;62(4):148. eLIBRARY ID: 29937189. (In Russ.)
  32. Von Wolff M., Haaf T. In vitro fertilization technology and child health. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2020;117(3):23–30. DOI: 10.3238/arztebl.2020.0023.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Киншт Дарья Александровна** – ассистент кафедры педиатрии и неонатологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6227-9893.

**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.

**Соболева Мария Константиновна** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный консультант по педиатрии Медицинского центра «АВИЦЕННА» ГК «Мать и Дитя», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2708-2264.

## ABOUT THE AUTHORS

**Darya A. Kinsht** – Assistant, Department of Pediatrics and Neonatology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6227-9893.

**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.

**Marya K. Soboleva** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pediatrics, Novosibirsk State Medical University; Chief Consultant for Pediatrics, Medical Center AVICENNA, Group of Companies “Mother and Child”, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2708-2264.

## Разработка методики определения амфотерицина В спектрофотометрическим методом в биологических средах

Л.В. Пашкова, Е.А. Ивановская, А.В. Лигостаев

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

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Разработка методов определения концентрации применяемых противомикробных препаратов при различных патологических состояниях организма представляет большой интерес.

**Цель.** Разработка методики количественного определения амфотерицина В в сыворотке крови.

**Материалы и методы.** Использовали лекарственный препарат амфотерицина В для приготовления растворов. Оптическую плотность растворов определяли спектрофотометрическим методом.

**Результаты.** Апробирована методика количественного определения амфотерицина В в растворе натрия хлорида, наиболее близком по составу к биологическим жидкостям. Статистический анализ показал, что ошибка метода определения концентрации амфотерицина В не превышает 10 %.

**Заключение.** Разработана унифицированная методика спектрофотометрического определения амфотерицина В в сыворотке крови. Найдены оптимальные условия определения амфотерицина в биологических жидкостях: растворитель – 0.9% раствор натрия хлорида, длины волн – 363, 383 и 406 нм,  $t - 3-6$  °С, определяемые концентрации – от  $1.0 \cdot 10^{-2}$  до  $1.0 \cdot 10^{-5}$  мг/л.

**Ключевые слова:** амфотерицин В, сыворотка крови, количественное определение, спектрофотометрия.

**Образец цитирования:** Пашкова Л.В., Ивановская Е.А., Лигостаев А.В. Разработка методики определения амфотерицина В спектрофотометрическим методом в биологических средах // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):122–130. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-122-130

## Development of a technique for amphotericin B determination by spectrophotometric method in biological fluids

L.V. Pashkova, E.A. Ivanovskaya, A.V. Ligostaev

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** The development of methods for determining the concentration of antimicrobial drugs used in various pathological conditions of the body is of great interest.

**Aim.** Development of a technique for quantitative determination of amphotericin B in blood serum.

**Materials and methods.** The drug amphotericin B was used for the preparation of solutions. The optical density of the solutions was determined by the spectrophotometric method.

**Results.** The method of quantitative determination of amphotericin B in sodium chloride solution, which is the closest in composition to biological fluids, has been tested. Statistical analysis showed that the error of the method for determining the concentration of amphotericin B does not exceed 10%.

Поступила в редакцию 10.06.2021  
Прошла рецензирование 22.04.2022  
Принята к публикации 11.05.2022

*Автор, ответственный за переписку*  
Пашкова Леся Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: pashkova.80@mail.ru

Received 10.06.2021  
Revised 22.04.2022  
Accepted 11.05.2022

*Corresponding author*  
Lesya V. Pashkova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: pashkova.80@mail.ru

**Conclusion.** A unified method of spectrophotometric determination of amphotericin B in blood serum has been developed. The optimal conditions for the determination of amphotericin in biological fluids were found: the solvent – 0.9% sodium chloride solution, wavelengths – 363, 383 and 406 nm,  $t - 3-6^{\circ}\text{C}$ , detectable concentrations – from  $1.0 \cdot 10^{-2}$  to  $1.0 \cdot 10^{-5}$  mg/l.

**Keywords:** amphotericin B, blood serum, quantitative determination, spectrophotometry.

**Citation example:** Pashkova L.V., Ivanovskaya E.A., Ligostaev A.V. Development of a technique for amphotericin B determination by spectrophotometric method in biological fluids. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):122–130. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-122-130

## ВВЕДЕНИЕ

Самым частым видом микоза является кандидоз [1]. В списке возбудителей кандидоза лидирующее место занимает *Candida (C.) albicans*. Этим видом грибов вызывается более 80 % кандидозов. Однако инфекция может быть вызвана и другими видами: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*.

Когда терапия системных микозов такими антибиотиками, как флуконазол, не дает эффекта, следует предположить, что кандидоз вызван природно-резистентными видами кандид, например *C. krusei*. В этих случаях рекомендуется противогрибковая терапия эффективным, но потенциально токсичным препаратом амфотерицином В [2].

Амфотерицин В (фунгизон) оказывает фунгицидное действие широкого спектра, высоко эффективен при системных и глубоких микозах: кандидозе, аспергиллезе, криптококкозе, легочных микозах и др. Препарат довольно токсичен, но в ряде случаев его применяют в связи с его большой эффективностью [1].

Для контроля токсичности и эффективности проводимого лечения, изучения фармакокинетических параметров необходима адекватная и достоверная информация о концентрации препарата в крови, получаемая благодаря использованию в анализе высокочувствительных методов, к которым относятся физико-химические, в том числе спектрофотометрический метод [3–5], широко используемый в фармакологии, токсикологии и фармации для анализа лекарственных средств [6].

В настоящее время метод спектрофотометрии применяется и развивается в силу целого ряда принципиальных достоинств, а именно: относительной простоты и дешевизны аппаратуры, большого разнообразия определяемых веществ в широком диапазоне их концентраций, достаточной чувствительности, селективности и экспрессности, высокой автоматизации измерительного процесса [3–5].

## INTRODUCTION

The most common type of mycosis is candidiasis [1]. *Candida (C.) albicans* occupies a leading place in the list of pathogens of candidiasis. This type of fungi causes more than 80% of candidiasis. However, the infection can also be caused by other species: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*.

When therapy of systemic mycoses with antibiotics such as fluconazole has no effect, it should be assumed that candidiasis is caused by naturally resistant *Candida* species, for example *C. krusei*. In these cases, antifungal therapy with the effective but potentially toxic drug, amphotericin B is recommended [2].

Amphotericin B (Fungizone) is a broad-spectrum fungicidal agent, and is highly effective in systemic and deep mycoses: candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, pulmonary mycoses, etc. The drug is quite toxic, but in some cases it is used due to its great effectiveness [1].

To control the toxicity and effectiveness of the treatment, to study the pharmacokinetic parameters, the adequate and reliable information on the concentration of the drug in the blood is necessary, which can be obtained through the use of highly sensitive analytical methods, which include physicochemical, and among them the spectrophotometric method [3–5], widely used in pharmacology, toxicology and pharmacy for analysis of drugs [6].

Currently, the spectrophotometry method is used and developed due to a number of fundamental advantages, namely: relative simplicity and affordability of the equipment, a wide variety of determined substances in a wide range of their concentrations, sufficient sensitivity, selectivity and rapidity, high automation of the measuring process [3–5].

In this regard, it is of interest to study the possibility of using spectrophotometry for pharmacokinetic studies, in drug quality control and for the purposes of therapeutic monitoring of amphotericin B [6].

В связи с этим представляет интерес изучение возможности использования спектрофотометрии для фармакокинетических исследований, в контроле качества лекарственных средств и для целей терапевтического мониторинга амфотерицина В [6].

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка простой, точной и недорогой методики количественного определения амфотерицина В в сыворотке крови.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования был использован препарат амфотерицина В для приготовления раствора, произведенный ОАО «Акционерное Курганское общество медицинских препаратов и изделий «Синтез» (г. Курган, Россия), растворитель – диметилсульфоксид и 0.9% раствор натрия хлорида, осадитель – спирт этиловый 95.6%.

Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-56 (Россия) в кюветках 10 мм относительно растворителя. Величину рН определяли с помощью универсального ионмера «Анион 4100» (Россия) [7].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для приготовления исходного раствора амфотерицина В брали 0.0250 г препарата и помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 15 мл диметилсульфоксида и доводили объем раствора диметилсульфоксидом до метки. Из полученного раствора одновременно готовили два раствора: первый – 5 мл исходного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора спиртом метиловым до метки (раствор 1); второй – 1 мл исходного раствора вносили в мерную колбу вместимостью 200 мл и доводили объем раствора спиртом метиловым до метки (раствор 2).

Регистрировали спектры поглощения растворов 1 и 2 в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве растворов сравнения диметилсульфоксид – спирт метиловый (1:9) – для раствора 1 и спирт метиловый – для раствора 2.

Спектр поглощения для стандартного образца раствора 1 в диапазоне длин волн 260–300 нм имел максимумы поглощения при 273 и 283 нм; спектр поглощения для стандартного образца раствора 2 в диапазоне длин волн 350–420 нм имел максимумы поглощения при 363, 383 и 406 нм.

### AIM OF THE RESEARCH

Development of a simple, correct and inexpensive method for the quantitative determination of amphotericin B in blood serum.

### MATERIALS AND METHODS

As the object of the study, amphotericin B produced by JSC Sintez (Kurgan, Russia) was used for the preparation of a solution, dimethyl sulfoxide and 0.9% sodium chloride solution were used as solvents, 95.6% ethanol – as a precipitator.

The optical density of the solutions was measured on a SF-56 spectrophotometer (Russia) in 10 mm cells relative to the solvent. The pH value was determined using a universal Anion 4100 ion meter (Russia) [7].

### RESULTS AND DISCUSSION

To prepare a stock solution of amphotericin B, 0.0250 g of the drug was taken and placed in a 25 ml flask, dissolved in 15 ml of dimethyl sulfoxide, and with the latter, the volume of the solution was brought to the mark. Two solutions were simultaneously prepared from the resulting stock solution: the first – 5 ml of the stock solution was placed into a 50 ml flask, and with methyl alcohol the volume of the solution was made to the mark (solution 1); the second – 1 ml of the stock solution was placed into a 200 ml flask, and with methyl alcohol the volume of the solution was made to the mark (solution 2).

Absorption spectra of solutions 1 and 2 were recorded in a cell with a layer thickness of 10 mm, using dimethyl sulfoxide and methanol (1:9) – for solution 1, and methanol – for solution 2, as blank solutions.

The absorption spectrum for the standard sample of solution 1 in the wavelength range of 260–300 nm had absorption peaks at 273 and 283 nm; the absorption spectrum for the standard sample of solution 2 in the wavelength range of 350–420 nm had absorption peaks at 363, 383 and 406 nm.

To select optimal conditions for sample preparation, 3 ml of venous blood was taken, in the fasted state, without the addition of any reagents. The obtained blood samples were centrifuged for 10 minutes, and the serum was analyzed. According to the literature data, quantitative analysis of medicines is carried out, as a rule, in a protein-free blood filtrate, i.e. after protein precipitation in one way or another. Precipitation is carried out using three groups of methods [3, 8, 9]:

1) addition of water-miscible organic solvents (ethanol, methanol, acetone, etc.): typically

Для подбора оптимальных условий пробоподготовки забирали 3 мл венозной крови, натощак, без добавления каких-либо реагентов. Полученные образцы крови подвергали центрифугированию в течение 10 мин и исследовали сыворотку. Согласно литературным данным количественный анализ лекарственных средств проводится, как правило, в безбелковом фильтрате крови, т.е. после осаждения белков тем или иным способом. Осаждение проводится с использованием трех групп методов [3, 8, 9]:

1) добавление смешивающихся с водой органических растворителей (этанол, метанол, ацетон и т.д.): как правило, используется 5–10-кратное количество растворителя по сравнению с объемом пробы;

2) добавление химических агентов для коагуляции белков: кислоты (трихлоруксусной, хлорной), ионов тяжелых металлов (например, бария) и т.д.;

3) термическая обработка.

Из выше описанных методов осаждения белков наиболее приемлемым оказался первый: в качестве осадителя использовался органический реагент – этанол 95.6%, благодаря которому достигалось полное осаждение белков из модельного раствора (сыворотка и амфотерецин В), что позволило использовать данный способ пробоподготовки для количественного определения концентрации препарата в биологическом объекте (рН = 5–6).

Методика осаждения: к 1.6 мл сыворотки добавляли 8.4 мл 95.6% этанола, чтобы конечная концентрация составила 75–80 %; смесь нагревали до кипения в течение 1–2 мин, охлаждали, центрифугировали в течение 10 мин и отделяли надосадочную жидкость. Затем готовили разведения на 0.9% растворе натрия хлорида (методом разбавления), температура натрия хлорида была не выше 6 °С.

В качестве фонового раствора был использован раствор 0.9% натрия хлорида, так как методу необходимо было адаптировать для сыворотки крови (рис. 1).

Спектр натрия хлорида подтверждает чистоту фонового раствора. Натрия хлорид при разбавлении амфотерицина В не влияет на спектр полученного амфотерицина В и его аналитического сигнала.

Для приготовления исходного раствора с концентрацией  $1.0 \cdot 10^{-2}$  мг/л в мерный стаканчик на 10 мл помещали 0.1 мг стандартного

5–10 times the amount of solvent compared to the sample volume is used;

2) addition of chemical agents for protein coagulation: acid (trichloroacetic, perchloric), heavy metal ions (for example, barium), etc.;

3) baking.

Of the above described methods of protein precipitation, the first one turned out to be the most acceptable: an organic reagent, 95.6% ethanol, was used as a precipitator, thanks to which complete precipitation of proteins from the model solution (serum and amphotericin B) was achieved, which allowed using this method of sample preparation for quantifying the concentration of the drug in a biological object (pH = 5–6).

Precipitation method: 8.4 ml of 95.6% ethanol was added to 1.6 ml of serum to make the final concentration 75–80%; the mixture was heated to a boil for 1–2 min, cooled, centrifuged for 10 min, and the supernatant was separated. Then dilutions were prepared using a 0.9% sodium chloride solution (by dilution), the temperature of sodium chloride was no higher than 6 °C.

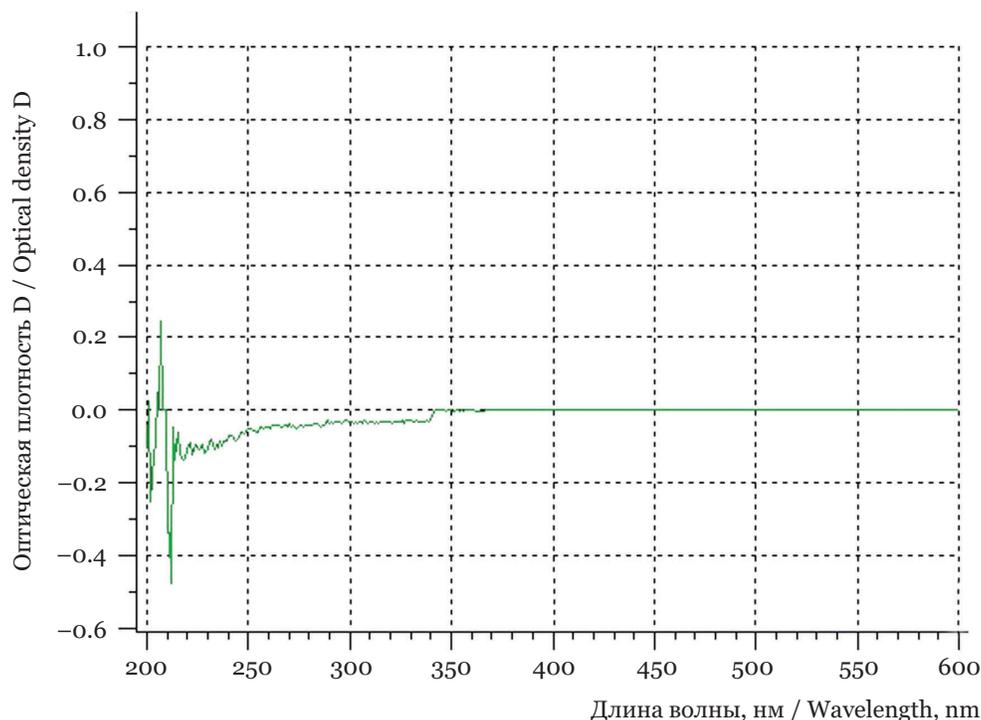
A 0.9% sodium chloride solution was used as the blank solution, since the technique had to be adapted for blood serum (Fig. 1).

The spectrum of sodium chloride confirms the purity of the blank solution. Sodium chloride when diluting amphotericin B does not affect the spectrum of the resulting amphotericin B and its analytical signal.

To prepare the stock solution with a concentration of  $1.0 \cdot 10^{-2}$  mg/l, 0.1 mg of a standard substance (dissolved substance according to Technical Specifications) was placed in a 10 ml dosing cup and a 0.9% sodium chloride solution was added to the mark. Preparation of a standard sample solution with a lower concentration was carried out by serial dilution of the stock solution. So, to prepare a standard solution with a concentration of  $1.0 \cdot 10^{-3}$  mg/l, 1 ml of the stock solution was placed in a 10 ml dosing cup, and the volume of the solution was adjusted with 0.9% sodium chloride to the mark. Thus, solutions with a lower concentration were obtained by serial dilution. Then 0.5 ml of 0.9% sodium chloride, 0.5 ml of precipitated serum, 0.1 ml of the drug solution in sodium chloride with a concentration of  $1.0 \cdot 10^{-3}$  mg/l were placed into a 10 mm cell – thus a dilution of  $1.0 \cdot 10^{-4}$  mg/l was obtained. 0.9% sodium chloride was used as a blank solution.

The spectrum had absorption peaks at wavelengths of 363, 383 and 406 nm (Fig. 2).

From Fig. 2 it can be seen that the substances contained in the serum did not interfere with the



**Рис. 1.** Спектр 0.9% раствора натрия хлорида относительно воды  
**Fig. 1.** Spectrum of a 0.9% sodium chloride solution relative to water

вещества (растворенного вещества по Техническим условиям (ТУ)) и добавляли 0.9% раствор натрия хлорида до метки. Приготовление раствора стандартного образца с меньшей концентрацией проводили путем последовательного разведения исходного раствора. Так, для приготовления стандартного раствора с концентрацией  $1.0 \cdot 10^{-3}$  мг/л 1 мл исходного раствора помещали в мерный стаканчик на 10 мл и объем раствора доводили 0.9% натрием хлоридом до метки. Таким образом, путем последовательного разведения получали растворы с меньшей концентрацией.

Далее в кювету толщиной 10 мм наливали 0.5 мл 0.9% натрия хлорида, 0.5 мл осажденной сыворотки, 0.1 мл раствора препарата в натрии хлориде с концентрацией  $1.0 \cdot 10^{-3}$  мг/л – таким образом получалось разведение  $1.0 \cdot 10^{-4}$  мг/л. В качестве раствора сравнения использовали 0.9% натрия хлорид.

Спектр имел пики поглощения при длинах волн 363, 383 и 406 нм (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что вещества, содержащиеся в сыворотке, не мешали определению амфотерицина В, так как в спектре поглощения амфотерицина В, зарегистрированном в диапазоне 240–600 нм, наблюдались характерные для него максимумы – 363, 383 и 406 нм, как и в ТУ для стандартного образца.

determination of amphotericin B, since in the absorption spectrum of amphotericin B in the range of 240–600 nm its characteristic peaks were observed – 363, 383 and 406 nm, as in the Technical Specifications for the standard sample.

To confirm the correctness of the developed method, spike recovery experiments were carried out (Tables 1–4). For the quantitative determination of amphotericin B, the standard addition method was used, according to which the concentration of the substance being determined was calculated by the formula

$$C_x = [(C_{st} \cdot V_{add}) / (V_c + V_{add}) \cdot I_x / (I_{sum} - I_x)],$$

where  $C_x$  – the concentration of the substance being determined, g/ml;

$C_{st}$  – the concentration of the standard substance, g/ml;

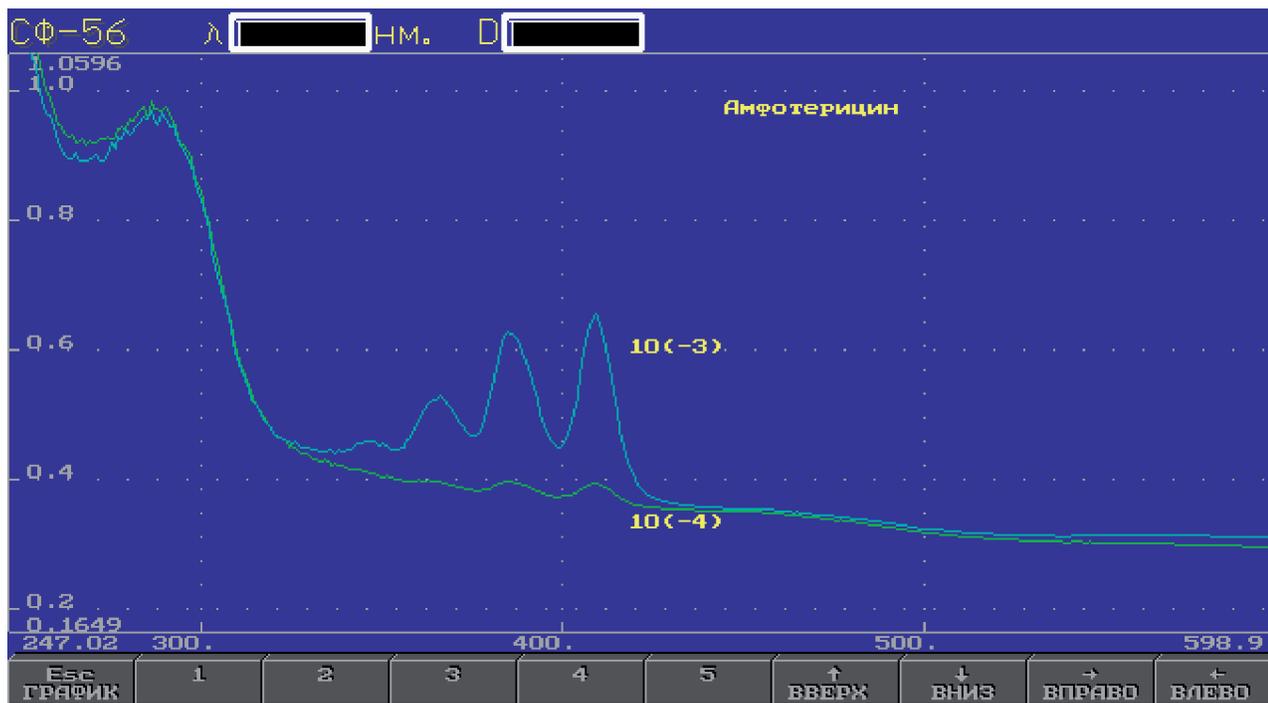
$V_{add}$  – the volume of the addition of the standard solution, ml;

$V_c$  – the volume of the solution in the cell, ml;

$I_x$  – signal value of the analyte,  $\mu$ A;

$I_{sum} = I_{add} + I_x$ ,  $\mu$ A ( $I_{add}$  – the analytical signal value of the standard solution addition,  $\mu$ A).

Analyzing Table 1, it can be concluded that with an amphotericin B concentration of  $1.0 \cdot 10^{-5}$  mg/l, the error did not exceed 10%, and the limit of quantitative determination was 0.00001 mg/l.



**Рис. 2.** Спектр амфотерицина В в сыворотке с концентрациями  $1.0 \cdot 10^{-3}$  и  $1.0 \cdot 10^{-4}$  мг/л, разбавленной 0.9% раствором натрия хлорида

**Fig. 2.** Spectrum of amphotericin B in serum with concentrations of  $1.0 \cdot 10^{-3}$  and  $1.0 \cdot 10^{-4}$  mg/l diluted with a 0.9% sodium chloride solution

Для подтверждения правильности разработанной методики провели эксперимент по методу «введено-найдено» (табл. 1–4). Для количественного определения амфотерицина В был использован метод стандартных добавок, согласно которому концентрацию определяемого вещества рассчитывали по формуле

$$C_x = [(C_{ст} \cdot V_{доб}) / (V_{я} + V_{доб})] \cdot I_x / (I_{sum} - I_x),$$

где  $C_x$  – концентрация определяемого вещества, г/мл;

$C_{ст}$  – концентрация стандартного вещества, г/мл;

$V_{доб}$  – объем добавки стандартного раствора, мл;

$V_{я}$  – объем раствора в ячейке, мл;

The advantage of the proposed method was rapidity – the time of a single analysis was 1 min (with the sample preparation – 15 min, including preparation of samples from 2 to 10 biological objects simultaneously).

## CONCLUSION

For the first time, the optimal conditions (wavelength, precipitator, temperature regime, range of detectable concentrations) of the method for determining amphotericin B by spectrophotometric method in blood serum were determined:  $\lambda = 363, 383$  and  $406$  nm; the solvent – a 0.9% sodium chlo-

**Таблица 1.** Результаты теста «введено-найдено» при определении концентрации амфотерицина В в сыворотке крови

**Table 1.** The results of the spike recovery experiment in determining the concentration of amphotericin B in blood serum

№ п/п No.	Истинное значение измеряемой величины $\mu$ , мг/л The true value of the measured parameter $\mu$ , mg/l	Средняя выборка $X_{cp}$ Average sample $X_{av}$	Стандартное отклонение Standard deviation $S \cdot 10^{-6}$	Полуширина доверительного интервала $(X - X_{cp}) \cdot 10^{-6}$ Confidence interval half-width $(X - X_{av}) \cdot 10^{-6}$	Относительный процент ошибки Relative error percentage $\varepsilon$ , %
1	0.01	$1.186 \cdot 10^{-2}$	1234.4	1143.0	9.64
2	0.001	$1.229 \cdot 10^{-3}$	136.2	126.0	10.27
3	0.0001	$1.400 \cdot 10^{-4}$	0.153	0.141	10.10
4	0.00001	$1.443 \cdot 10^{-5}$	1.573	1.457	10.10

**Таблица 2.** Результаты оценки повторяемости разработанной методики определения концентрации амфотерицина В в сыворотке крови**Table 2.** The results of the repeatability assessment of the developed method for determining the concentration of amphotericin B in blood serum

Номер измерения Measurement number	Концентрация амфотерицина В в сыворотке крови, мг/л Amphotericin B concentration in blood serum, mg/l
1	0.01186
2	0.01188
3	0.01179
4	0.01188
5	0.01183
6	0.01145
7	0.01226
8	0.00985
9	0.01388
10	0.01186

Примечание. Метрологические характеристики:  $X_{cp} = 0.01186$ ;  $S = 1.234 \cdot 10^{-3}$ ;  $\varepsilon = 9.64$  %.

Note. Metrological characteristics:  $X_{av} = 0.01186$ ;  $S = 1.234 \cdot 10^{-3}$ ;  $\varepsilon = 9.64$  %.

$I_x$  – величина сигнала определяемого вещества, мкА;

$I_{sum} = I_{доб} + I_x$ , мкА ( $I_{доб}$  – величина аналитического сигнала добавки стандартного раствора, мкА).

Анализируя табл. 1, можно сделать вывод, что при концентрации амфотерицина В  $1.0 \cdot 10^{-5}$  мг/л ошибка не превышала 10 %, а предел количественного определения составил  $0.00001$  мг/л.

Преимуществом предложенной методики была экспрессность – время единичного анализа составляло 1 мин (с проведением пробоподготовки – 15 мин, включая пробоподготовку от 2 до 10 биологических объектов одновременно).

ride solution;  $t$  – from 3 to 6°C; range of detectable concentrations – from  $1.0 \cdot 10^{-2}$  to  $1.0 \cdot 10^{-5}$  mg/l.

Optimal conditions for the preparation of blood serum sample for the determination of amphotericin B were selected, while the volume of analyzed samples ranged from 0.5 to 1.0 ml, which will allow for pharmacokinetic studies of patients to be conducted in a sparing mode. The optimal protein precipitator has also been established, at which the precipitation of proteins in the biological sample under study (blood serum) occurs most completely.

The technique can be used to monitor concentrations with the selection of individual doses of the

**Таблица 3.** Статистическая обработка результатов внутрилабораторной прецизионности (число степеней свободы  $F = 10$ , доверительная вероятность  $p = 95$  %, критическое значение  $t$ -критерия Стьюдента = 2.28)**Table 3.** Statistical processing of the results of intra-laboratory precision (number of freedom degrees  $F = 10$ , confidence probability  $p = 95$ %, critical value of the Student's  $t$ -test = 2.28)

Номер измерения Measurement number	Метрологическая характеристика Metrological characteristics	Аналитик I Analyst I	Аналитик II Analyst II
1	Среднее значение амфотерицина В, мг/л Average value of amphotericin B, mg/l	0.01186	0.01172
2	Дисперсия $S^2$ Dispersion $S^2$	$2.1769 \cdot 10^{-7}$	$2.0054 \cdot 10^{-7}$
3	Стандартное отклонение $S$ Standard deviation $S$	$1.234 \cdot 10^{-3}$	$0.934 \cdot 10^{-3}$
4	Относительная ошибка $\varepsilon$ , % Relative error $\varepsilon$ , %	9.64	9.05

Примечание. Критерий Фишера ( $F = 1.21$ ); значение  $t$ -критерия Стьюдента = 0.01; значения статистически не значимы ( $p = 0.994841$ ).

Note. The Fisher's criterion ( $F = 1.21$ ); the Student's  $t$ -test value = 0.01; values are not statistically significant ( $p = 0.994841$ ).

**Таблица 4.** Результаты определения внутрилабораторной прецизионности  
**Table 4.** Results of determination of intra-laboratory precision

Исполнитель Executor	Номер измерения Measurement number	Содержание амфотерицина В, мг/л Amphotericin B content, mg/l	Метрологические характеристики Metrological characteristics
Аналитик I Analyst I	1	0.01186	$X_{cp} (n = 10) = 0.01186$ $S = 1.234 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = 9.64 \%$
	2	0.01188	
	3	0.01179	
	4	0.01188	
	5	0.01183	
	6	0.01145	
	7	0.01226	
	8	0.00985	
	9	0.01389	
	10	0.01186	
Аналитик II Analyst II	1	0.01082	$X_{cp} (n = 10) = 0.01172$ $S = 0.9342 \cdot 10^{-3}$ $\varepsilon = 9.05 \%$
	2	0.01262	
	3	0.01193	
	4	0.01152	
	5	0.01182	
	6	0.01162	
	7	0.01083	
	8	0.01261	
	9	0.01261	
	10	0.01084	

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые определены оптимальные условия (длина волны, осадитель, температурный режим, диапазон определяемых концентраций) методики определения амфотерицина В спектрофотометрическим методом в сыворотке крови:  $\lambda = 363, 383$  и  $406$  нм; растворитель – 0.9% раствор натрия хлорида;  $t$  – от 3 до 6 °С; диапазон определяемых концентраций – от  $1.0 \cdot 10^{-2}$  до  $1.0 \cdot 10^{-5}$  мг/л.

Подобраны оптимальные условия пробоподготовки сыворотки крови для определения амфотерицина В, при этом объем анализируемых образцов составил от 0.5 до 1.0 мл, что позволит проводить фармакокинетические исследования пациентов в щадящем режиме. Также установлен оптимальный осадитель белков, при котором

drug, and the detection of the drug in biological samples.

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

наиболее полно происходит осаждение белков в исследуемой биологической пробе (сыворотке крови).

Методика может быть использована для мониторинга концентраций с подбором индивидуальных доз лекарственного средства и обнаружения препарата в биологических образцах.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пашкова Л.В. Адаптация методики количественного определения амфотерицина В на биологических объектах // Авиценна – 2009: материалы ежегодной конкурс-конференции студентов и молодых ученых. Новосибирск, 2009. С. 360 – 361.
2. Падейская Е.Н., Бакланова О.В. Синтетические химиотерапевтические препараты для лече-

## REFERENCES

1. Pashkova L.V. (2009). *Adaptation of the method for the quantitative determination of amphotericin B on biological objects*. Avicenna – 2009: Proceedings of the annual competition-conference of students and young scientists. Novosibirsk. P. 360–361. (In Russ.)
2. Padeyskaya E.N., Baklanova O.V. Synthetic chemotherapeutic drugs for the treatment of mycoses (review).

- ния микозов (обзор) // Хим.-фармацевт. журн. 1993;4:12–21.
3. Лигостаев А.В., Ивановская Е.А. Фармакокинетическое исследование онкопрепаратов в биологических объектах // Актуальные вопросы фармакологии и фармации: сб. тр. межвузовской науч. конф., посвящ. памяти проф. В.В. Пичугина и 75-летию КГМУ. Курск, 2009. С. 362–363.
  4. Belal S., Issa N. Spectrophotometric determination of methyl phenobarbitone using orthogonal polynomial // *Pharmazie*. 1982;37(4):297–298.
  5. Gavilán R.E., Nebot C., Veiga-Gómez M. et al. A confirmatory method based on HPLC-MS/MS for the detection and quantification of residue of tetracyclines in nonmedicated feed // *J. Anal. Methods Chem.* 2016;2016:1–8. DOI: 10.1155/2016/1202954.
  6. Moffat A.C., Jackson J.V., Moss M.S., Widdop B., Greenfield E.S. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. London: The Pharmaceutical Press, 1986. P. 503.
  7. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2018. Т. 3. 1927 с.
  8. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика: пер. с англ. М.: Мир, 1991. С. 472.
  9. Шорманов В.К., Андреева Ю.В., Омельченко В.А. Экстракция флутамида из водных растворов // Судебно-медицинская экспертиза. 2014;5:18–20.
3. Ligostaev A.V., Ivanovskaya E.A. (2009). *Pharmacokinetic study of oncology drugs in biological objects*. Topical Issues of Pharmacology and Pharmacy: collection of papers of the Interuniversity scientific conference, dedicated memory of prof. V.V. Pichugin and the 75th anniversary of KSMU. Kursk. P. 362–363. (In Russ.)
  4. Belal S., Issa N. Spectrophotometric determination of methyl phenobarbitone using orthogonal polynomial. *Pharmazie*. 1982;37(4):297–298.
  5. Gavilán R.E., Nebot C., Veiga-Gómez M. et al. A confirmatory method based on HPLC-MS/MS for the detection and quantification of residue of tetracyclines in nonmedicated feed. *J. Anal. Methods Chem.* 2016;2016:1–8. DOI: 10.1155/2016/1202954.
  6. Moffat A.C., Jackson J.V., Moss M.S., Widdop B., Greenfield E.S. (1986). *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. London: The Pharmaceutical Press. P. 503.
  7. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition (2018)*. Moscow. Vol. 3. 1927 p. (In Russ.)
  8. Doseon R., Elliot D., Elliot W., Jones C. (1991). *Data for Biochemical Research* (Transl. from English). Moscow: Mir. P. 472.
  9. Shormanov V.K., Andreeva Yu.V., Omel'chenko V.A. Extraction of flutamide from aqueous solutions. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza*. 2014;5:18–20. (In Russ.)

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Пашкова Леся Владимировна** — старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

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

**Лигостаев Александр Валерьевич** — канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

### ABOUT THE AUTHORS

**Lesya V. Pashkova** – Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Elena A. Ivanovskaya** – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Alexandr V. Ligostaev** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

## Современные представления о роли гематоэнцефалического барьера в развитии лимфом центральной нервной системы

Е.Н. Воропаева<sup>1</sup>, В.С. Карпова<sup>2</sup>, Т.И. Поспелова<sup>3</sup>, В.Н. Максимов<sup>1</sup>, Е.В. Воронцова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>НИИ терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup>ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

В обзоре обобщены современные представления о роли гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в развитии лимфом центральной нервной системы (ЦНС). В настоящее время установлено, что ГЭБ является высокоактивной структурой. С одной стороны, он защищает ткань мозга от химических, физических и иных воздействий, а с другой — уникально приспособлен для передачи сигналов между ЦНС и другими частями организма. Клетки ГЭБ реагируют на сигналы, поступающие из ЦНС или компартментов крови, которые могут стимулировать изменения в их барьерных, транспортных и секреторных функциях. Иммунная привилегированность ЦНС не абсолютна. В норме экстрavasация лимфоцитов через ГЭБ имеет решающее значение для иммунного надзора в нервной ткани, хотя и жестко регулируется. Повреждение ГЭБ является одним из центральных звеньев в патогенезе многих заболеваний нервной системы, а неспецифическая проницаемость ГЭБ может существенно возрастать при различной соматической патологии. В целом иммунологическая дисфункция и воспаление — основные факторы в нарушении целостности ГЭБ. Механизмы метастазирования злокачественных лимфом в ЦНС остаются малоизученными, хотя уже сейчас понятно, что для их осуществления необходимы взаимодействия между циркулирующими опухолевыми клетками и компонентами ГЭБ, при этом некоторые цитокины могут действовать как аттрактанты для метастазирующих клеток, а процесс развития опухоли включает в себя несколько этапов от экстрavasации до локальной пролиферации и активации неангиогенеза.

**Ключевые слова:** неходжкинская лимфома, гематоэнцефалический барьер, патогенез, центральная нервная система.

**Образец цитирования:** Воропаева Е.Н., Карпова В.С., Поспелова Т.И., Максимов В.Н., Воронцова Е.В. Современные представления о роли гематоэнцефалического барьера в развитии лимфом центральной нервной системы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):131–147. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-131-147

## Current research on the role of the blood-brain barrier in the central nervous system lymphomas development

E.N. Voropaeva<sup>1</sup>, V.S. Karpova<sup>2</sup>, T.I. Pospelova<sup>3</sup>, V.N. Maksimov<sup>1</sup>, E.V. Vorontsova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Private healthcare institution “Clinical Hospital ‘RZD-Medicine’ Novosibirsk”, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup>Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

The review summarizes modern researches about the role of the blood-brain barrier (BBB) in the development of lymphomas of the central nervous system (CNS). Currently, it has been established that the BBB is a highly active structure. On the

Поступила в редакцию 24.11.2021  
Прошла рецензирование 23.05.2022  
Принята к публикации 25.05.2022

Автор, ответственный за переписку  
Карпова Виктория Сергеевна: ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск. 630003, г. Новосибирск, Владимирский спуск, 2а.  
E-mail: vicka-34@ngs.ru

Received 24.11.2021  
Revised 23.05.2022  
Accepted 25.05.2022

Corresponding author  
Viktoriya S. Karpova: Private healthcare institution “Clinical Hospital ‘RZD-Medicine’ Novosibirsk”, 2a, Vladimirovskiy spusk, Novosibirsk, 630003, Russia.  
E-mail: vicka-34@ngs.ru

one hand, it protects the brain tissue from chemical, physical and other influences, and on the other hand, it is uniquely adapted for transmitting signals between the CNS and other parts of the body. BBB cells respond to signals from the CNS or blood compartments that can stimulate changes in their barrier, transport, and secretory functions. The immune privilege of the CNS is not absolute. Normally, extravasation of lymphocytes through the BBB is crucial for immune surveillance in nervous tissue, although it is tightly regulated.

Damage to the BBB is one of the central links in the pathogenesis of many diseases of the nervous system, and the nonspecific permeability of the BBB can increase significantly in various somatic pathologies. In general, immunological dysfunction and inflammation are the main factors in the violation of the BBB integrity. The mechanisms of metastasis of malignant lymphomas in the CNS remain poorly understood, although it is already clear that their implementation requires interactions between circulating tumor cells and BBB components, while some cytokines can act as attractants for metastatic cells, and the process of tumor development includes several stages from extravasation to local proliferation and activation of neangiogenesis.

**Keywords:** non-Hodgkin's lymphoma, blood-brain barrier, pathogenesis, central nervous system.

**Citation example:** Voropaeva E.N., Karpova V.S., Pospelova T.I., Maksimov V.N., Vorontsova E.V. Current research on the role of the blood-brain barrier in the central nervous system lymphomas development. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):131–147. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-131-147

### ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ПОРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДИФFUЗНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) является наиболее частым вариантом неходжкинских лимфом (до 30–40 % всех случаев заболевания) и представляет собой биологически гетерогенное заболевание, в котором выделяют различные клинические варианты [1, 2]. Как правило, заболевание возникает в специализированных лимфоидных органах. Однако до трети ДВККЛ могут возникать в экстранодальных участках, чаще всего в желудочно-кишечном тракте, коже и мягких тканях, костях или мочеполовом тракте, а также центральной нервной системе (ЦНС) [3, 4].

Очевидно, что существует неудовлетворенная потребность в диагностических инструментах, новых подходах к стратификации на группы риска и методах профилактики поражения ЦНС у пациентов с ДВККЛ. Вместе с тем редкость ДВККЛ с вовлечением ЦНС, тяжесть больных и ограниченная доступность для биопсии пораженной мозговой ткани препятствуют активному изучению данной опухоли, а наше понимание ее особенностей остается весьма ограниченным [5].

Первичная ДВККЛ ЦНС является самостоятельной формой лимфом, встречается редко (около 5 % новообразований центральной нервной системы и 1–2 % всех случаев неходжкинских лимфом) и в большинстве случаев заканчивается фатально. Медиана жизни больных составляет 3.5–7 мес [6]. Для опухоли характерно поражение головного мозга, спинного мозга, черепно-

### EPIDEMIOLOGY OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM DAMAGE IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common variant of non-Hodgkin's lymphomas (up to 30–40% of all cases) and is a biologically heterogeneous disease with various clinical variants [1, 2]. As a rule, the disease occurs in specialized lymphoid organs. However, up to a third of DLBCL can occur in extranodal sites, most commonly in the gastrointestinal tract, skin and soft tissues, bones or genitourinary tract, and the central nervous system (CNS) [3, 4].

Clearly, there is an unmet need for diagnostic tools, new approaches to risk stratification, and methods for the prevention of CNS involvement in patients with DLBCL. At the same time, the rarity of DLBCL involving the CNS, the severity of patients, and the limited availability of the affected brain tissue for biopsy hinder the active study of this tumor, and our understanding of its features remains very limited [5].

Primary DLBCL of the CNS is an independent form of lymphomas, is rare (about 5% of neoplasms of the central nervous system and 1–2% of all cases of non-Hodgkin's lymphomas) and in most cases ends fatally. The median life of patients is 3.5–7 months [6]. The tumor is characterized by lesions in the brain, spinal cord, cranial nerves, eyes, and meninges in the absence of tumor foci outside the CNS [6, 7]. According to the type of involvement of parts of the nervous system, it can be classified into leptomeningeal, parenchymal, ocular, or combined lesions [8]. At the same time, spinal cord lesions are extremely rare in primary DLBCL of the CNS [9].

мозговых нервов, глаз и мозговых оболочек в отсутствие очагов опухоли вне ЦНС [6, 7]. По типу вовлечения отделов нервной системы она может быть классифицирована на лептоменингеальные, паренхиматозные, глазные или комбинированные поражения [8]. При этом поражения спинного мозга крайне редко встречаются при первичной ДВККЛ ЦНС [9].

Поражение ЦНС может возникать и вторично при ДВККЛ, обычно в течение первого года после диагностики системной опухоли [10, 11]. Вторичное поражение ЦНС при системных вариантах ДВККЛ регистрируется приблизительно в 5 % случаев и может возникать на различных этапах прогрессии опухоли [12]. Оно редко обнаруживается в дебюте системного заболевания, может манифестировать в течение нескольких месяцев после верификации диагноза, что может свидетельствовать о существовании нераспознанного очага уже на момент постановки диагноза. Также вовлечение в опухолевый процесс ЦНС при ДВККЛ может выявляться в момент рецидива заболевания, что всегда характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом для жизни пациента [5, 13]. Так, медиана общей выживаемости пациентов, имеющих рецидив ДВККЛ с поражением ЦНС, составляет всего несколько месяцев [10].

По сроку возникновения и характеру вовлечения нервной системы вторичное вовлечение ЦНС при ДВККЛ можно разделить на три варианта: системная лимфома, сочетающаяся с поражением ЦНС в дебюте заболевания; поражение ЦНС в момент системного рецидива или прогрессирования и изолированный рецидив в ЦНС (отсутствие поражения других органов и систем) [14, 15].

Согласно литературным данным, на момент обнаружения очагов опухоли в ЦНС при рецидиве заболевания примерно половина пациентов имеют прогрессирующую системную лимфому [3]. У больных же с изолированным рецидивом опухоли в ЦНС системное заболевание часто развивается позже, в течение нескольких месяцев. Таким образом, системные проявления лимфомы обычно сопровождают обнаружение паренхиматозного или лептоменингеального поражения нервной ткани [16].

По данным статистики на лептоменингеальную лимфому приходится две трети случаев вторичных лимфом ЦНС, остальная часть представлена паренхиматозным поражением мозга [17]. При этом вовлечение мозговых оболочек может быть результатом прямого распространения опухоли с соседних костных очагов, гематогенной

CNS involvement can also occur secondary to DLBCL, usually within the first year after the diagnosis of a systemic tumor [10, 11]. Secondary CNS involvement in systemic DLBCL is recorded in approximately 5% of cases and may occur at various stages of tumor progression [12]. It is rarely detected at the onset of a systemic disease, it can manifest itself within several months after the verification of the diagnosis, which may indicate the existence of an unrecognized focus already at the time of diagnosis. Also, the involvement of the CNS in the tumor process in DLBCL can be detected at the time of disease recurrence, which is always characterized by an extremely unfavorable prognosis for the patient's life [5, 13]. Thus, the median overall survival of patients with recurrent DLBCL with CNS involvement is only a few months [10].

According to the time of occurrence and the nature of the involvement of the nervous system, the secondary CNS involvement in DLBCL can be divided into three variants: systemic lymphoma, combined with CNS lesions at the onset of the disease; the CNS lesions at the time of systemic relapse or progression and isolated recurrence in the CNS (absence of lesions in other organs and systems) [14, 15].

According to the literature data, at the time of detection of tumor foci in the CNS with a relapse of the disease, approximately half of the patients have progressive systemic lymphoma [3]. In patients with isolated tumor recurrence in the CNS, systemic disease often develops later, within a few months. Thus, systemic manifestations of lymphoma usually accompany the detection of parenchymal or leptomeningeal lesions of the nervous tissue [16].

According to statistics, leptomeningeal lymphoma accounts for two thirds of cases of secondary CNS lymphomas, the rest is represented by parenchymal lesion of the brain [17]. At the same time, the involvement of the meninges can be the result of direct spread of the tumor from neighboring bone foci, hematogenous dissemination, or spread along the neurovascular bundles [11].

Parenchymal lesion of the CNS in lymphoma can be manifested by single or multiple foci, have a periventricular and/or superficial location [9]. Based on neuroimaging data, it is impossible to differentiate secondary CNS lesions in DLBCL and primary CNS lymphoma [18], although there is evidence that secondary brain damage in DLBCL is mainly manifested by multiple supratentorially located foci, while single foci are characteristic of primary CNS lymphoma [16].

The addition of rituximab, a targeted drug of monoclonal antibodies to CD20, to standard chemo-

диссеминации или распространения по сосудисто-нервным пучкам [11].

Паренхиматозное поражение ЦНС при лимфоме может проявляться единичным или множественными очагами, иметь перивентрикулярное и/или поверхностное расположение [9]. На основе данных нейровизуализации невозможно дифференцировать вторичные поражения ЦНС при ДВККЛ и первичную лимфому ЦНС [18], хотя имеются данные, что вторичное поражение мозга при ДВККЛ в основном проявляется множественными супратенториально расположенными очагами, тогда как для первичной лимфомы ЦНС характерны единичные очаги [16].

Добавление таргетного препарата моноклональных антител к CD20 ритуксимаба к стандартной химиотерапии заболевания, к сожалению, не снизило частоту рецидивов данной опухоли с поражением нервной ткани в связи с малым проникновением его через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Медиана интервала от постановки диагноза ДВККЛ до вовлечения ЦНС также практически не изменилась и составляет от 6.5 до 7 мес.

### СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРОЕНИИ И ФУНКЦИИ ГЕМАТО- ЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

Гематоэнцефалический барьер представляет собой анатомическую структуру, отграничивающую нервную ткань от кровеносной системы организма, которая включает в себя специализированные сосудистые барьеры: гематоретинальный, гематонервный, гематолабиринтный и гематоспинномозговой. Эпителиальные клетки сосудистого сплетения гематоликворного барьера и танициты, расположенные вдоль границ желудочков и околожелудочковых органов, могут считаться отделами ГЭБ, поскольку они также предотвращают нерегулируемое попадание компонентов крови в спинномозговую жидкость и интерстициальную жидкость головного мозга [19].

Отсутствует ГЭБ в шести анатомических зонах ЦНС, большинство из которых участвуют в процессах нейрогуморальной регуляции: ромбовидная ямка, шишковидное тело, нейрогипофиз, прикрепленная пластинка, субфорникальный и субкомиссуральный органы [19].

На клеточном уровне ГЭБ состоит из эндотелиальных клеток, астроцитов, перицитов, нейронов, макрофагов микроглии, а также внеклеточного матрикса и гликокаликса, которые входят в состав нейроваскулярной единицы [20] (рис. 1).

therapy of the disease, unfortunately, did not reduce the recurrence rate of this tumor with damage to the nervous tissue due to its low penetration through the blood-brain barrier (BBB). The median interval from the diagnosis of DLBCL to CNS involvement also remained virtually unchanged and ranged from 6.5 to 7 months.

### MODERN IDEAS ABOUT THE STRUCTURE AND FUNCTION OF THE BLOOD-BRAIN BARRIER

The blood-brain barrier is an anatomical structure that separates the nervous tissue from the circulatory system of the body, which includes specialized vascular barriers: blood-retinal, blood-nerve, blood-labyrinth and blood-spinal cord. Epithelial cells of the choroid plexus of the blood-cerebrospinal fluid barrier and tanyocytes located along the borders of the ventricles and periventricular organs can be considered as components of the BBB, since they also prevent the unregulated entry of blood components into the cerebrospinal fluid and interstitial fluid of the brain [19].

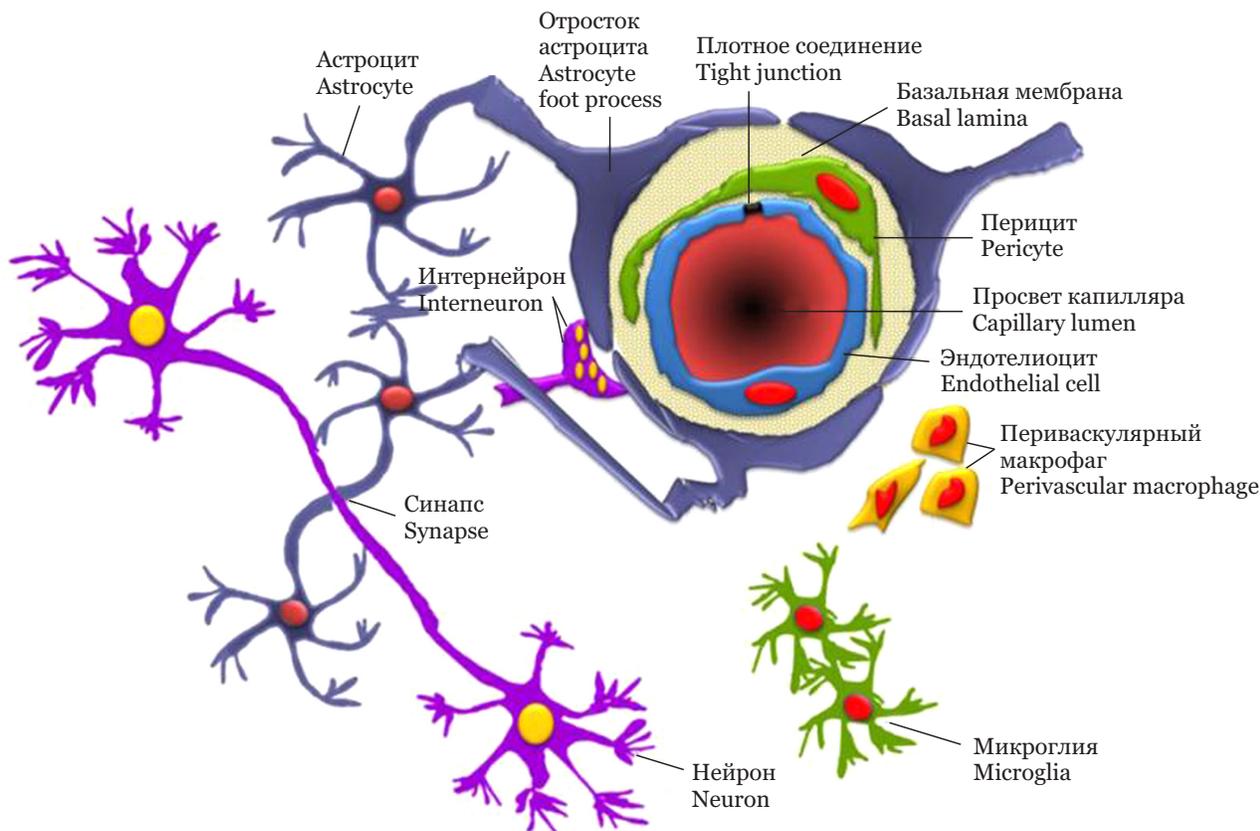
There is no BBB in six anatomical zones of the CNS, most of which are involved in the processes of neurohumoral regulation: rhomboid fossa, pineal body, neurohypophysis, lamina affixa, subfornical and subcommissural organs [19].

At the cellular level, the BBB consists of endothelial cells, astrocytes, pericytes, neurons, microglia macrophages, as well as extracellular matrix and glycocalyx, which are part of the neurovascular unit [20] (Fig. 1).

The most apical structures in endothelial cells are the tight junctions. Their main transmembrane components are claudins, occludin, and adhesion molecules. Below the tight junctions, there are adherens junctions formed by transmembrane proteins – cadherins and nectins [21].

The luminal surface of endothelial cells is lined with glycocalyx. It prevents the direct effect of plasma components on the endothelial luminal membrane, and also functions as a mechanosensor and signal transmitter to the endothelium [22].

Endothelial cells perform barrier, transport, metabolic functions, as well as induce the differentiation of astrocytes and support the functions of pericytes. The latter ones form the second cell layer in capillaries and postcapillaries [23]. They are very closely attached to endothelial cells and share a basement membrane with them. The basement membrane of microvessels is composed of laminins, collagen IV, fibronectin, glycosaminoglycans, and glycoproteins.



**Рис. 1.** Строение гематоэнцефалического барьера, нейроваскулярная единица (по [20])  
**Fig. 1.** Structure of the blood-brain barrier, neurovascular unit (according to [20])

Наиболее апикальными структурами в эндотелиальных клетках являются плотные соединения. Их основные трансмембранные компоненты – клаудины, окклюдин и молекулы адгезии. Ниже плотных контактов расположены присоединяющие контакты, образованные трансмембранными белками – кадгеринами и нектинами [21].

Просветную поверхность эндотелиальных клеток выстилает гликокаликс. Он предотвращает прямое воздействие компонентов плазмы на эндотелиальную просветную мембрану, а также выполняет функции механосенсора и передачи сигналов в эндотелий [22].

Эндотелиальные клетки выполняют барьерную, транспортную, обменную функции, а также индуцируют дифференцировку астроцитов и поддерживают функции перицитов. Последние образуют второй клеточный слой в капиллярах и посткапиллярах [23]. Они очень тесно прикреплены к эндотелиальным клеткам и имеют общую с ними базальную мембрану. Базальная мембрана микрососудов состоит из ламининов, коллагена IV, фибронектина, гликозаминогликанов и гликопротеинов. Она функционирует как каркас, прикрепление эндотелия на который

It functions as a scaffold, the attachment of the endothelium to which is mediated by integrins, and, along with other components of the neurovascular unit, contributes to the impermeability of the CNS microvasculature [24].

Astrocytes are the most common type of brain cells. Astrocyte processes surround cerebral capillaries, arterioles and venules and regulate a number of physiological processes in the CNS, such as neurotransmission, synaptic plasticity, functional hyperemia, and convective flow of the interstitial fluid of the brain [25].

Neurons also have a significant impact on the functioning of the BBB. In particular, they induce the expression of BBB-associated proteins in endothelial cells, regulate their permeability, as well as the width of the lumen of cerebral vessels [22].

Brain microglia originates from yolk sac cells migrating into the CNS during embryonic development. In the adult human brain, microglial cells are closely associated with the vasculature and produce proinflammatory mediators (cytokines, chemokines, nitric oxide, prostaglandins, matrix proteases, and reactive oxygen species) [26]. An important protective function of microglia is its

опосредуется интегринами, и, наряду с другими компонентами нейроваскулярной единицы, способствует непроницаемости микроциркуляторного русла ЦНС [24].

Астроциты – наиболее распространенный тип клеток головного мозга. Отростки астроцитов окружают мозговые капилляры, артериолы и венулы и регулируют ряд физиологических процессов в ЦНС, таких как нейромедиация, синаптическая пластичность, функциональная гиперемия и конвективный поток интерстициальной жидкости мозга [25].

Нейроны также оказывают существенное влияние на функционирование ГЭБ. В частности, они индуцируют экспрессию ГЭБ-ассоциированных белков в эндотелиальных клетках, регулируют их проницаемость, а также ширину просвета сосудов мозга [22].

Микроглия головного мозга происходит из клеток желточного мешка, мигрирующих в ЦНС во время эмбрионального развития. В мозге взрослого человека клетки микроглии тесно связаны с сосудистой сетью и продуцируют провоспалительные медиаторы (цитокины, хемокины, оксид азота, простагландины, матриксные протеазы и активные формы кислорода) [26]. Важной защитной функцией микроглии является ее способность быстро мигрировать в места повреждения головного мозга и изменять свою морфологию с образованием специализированной фагоцитарной сети, препятствующей диффузии вредных веществ в мозговую паренхиму. Данный тип клеток также способствует разрешению воспаления в головном мозге после травмы [27].

Таким образом, главная функция ГЭБ – барьерная. Она заключается в ограничении попадания в ткань мозга клеток и веществ, переносимых кровью [28] (рис. 2). В ее основе лежат следующие механизмы:

1) плотные контакты, которые предотвращают парацеллюлярную диффузию растворенных веществ и клеток крови в мозг;

2) специализированный липидный состав эндотелия сосудов мозга, который ингибирует опосредованный микровезикулами жидкофазный транцитоз;

3) активное прохождение веществ в направлении мозг – кровь или ликвор – кровь за счет экспрессии клетками ГЭБ белков-транспортёров эффлюкса, а именно белков семейства ABC-транспортёров (ATP-binding cassette – ABC), что ограничивает поглощение мозгом эндогенных макромолекул и ксенобиотиков [22].

Вместе с тем небольшие липофильные молекулы могут пересекать ГЭБ путем пассивной

ability to quickly migrate to sites of brain damage and change its morphology with the formation of a specialized phagocytic network that prevents the diffusion of harmful substances into the brain parenchyma. This cell type also contributes to the resolution of inflammation in the brain after injury [27].

Thus, the main function of the BBB is a barrier. It is about limiting the entering of cells and substances carried by the blood into the brain tissue [28] (Fig. 2). It is based on the following mechanisms:

1) tight junctions that prevent paracellular diffusion of solutes and blood cells into the brain;

2) a specialized lipid composition of the cerebral vascular endothelium that inhibits microvesicles-mediated fluid-phase transcytosis;

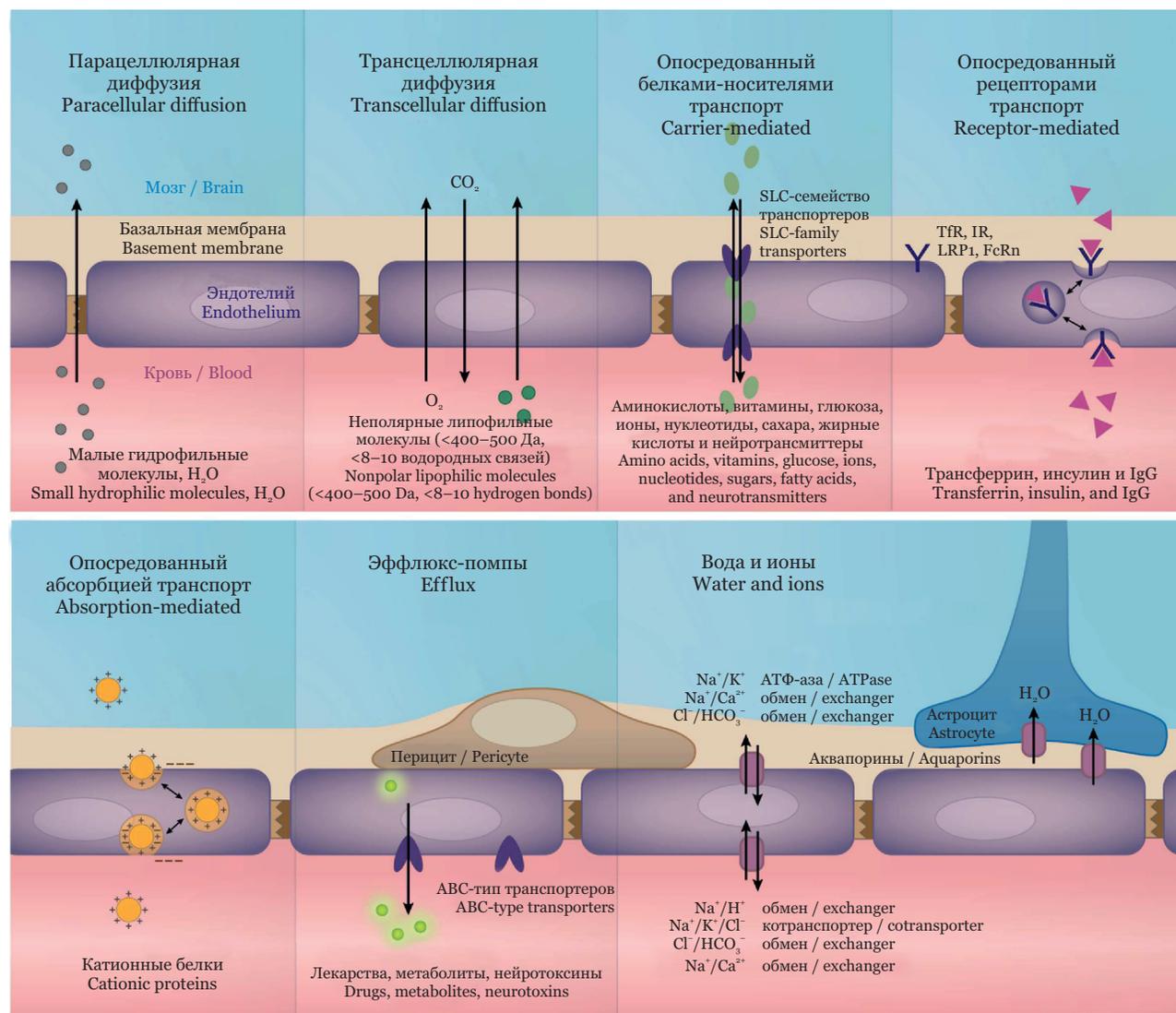
3) an active brain – blood or cerebrospinal fluid – blood passing of substances due to the expression of efflux transporter proteins by BBB cells, namely proteins of the ABC transporter family (ATP-binding cassette – ABC), which limits the absorption of endogenous macromolecules and xenobiotics by the brain [22].

At the same time, small lipophilic molecules can cross the BBB by passive transmembrane diffusion. In order to provide the brain with substrates for energy production, synthesis of proteins and nucleic acids, maintenance of pH and electrolytes, the transport of small polar molecules (glucose, amino acids, nucleosides, ions, prostaglandins and others) through the cell membranes of the BBB is carried out by soluble carrier proteins. Peptides and large proteins are transported through the BBB by receptor-mediated transcytosis and endocytosis, which are not only energy-dependent and saturable, but also depend on vesicular transport [29].

In addition to the barrier function, the BBB has specialized functions that are responsible for CNS homeostasis, nutrition and communication between brain tissue and other parts of the body.

## THE STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE BLOOD-CEREBROSPINAL FLUID BARRIER

The choroid plexus of the blood-cerebrospinal fluid barrier and tanycytes, in addition to preventing the penetration of blood cells into the cerebrospinal fluid and interstitial fluid of the brain, provide the transport to the brain of a number of substances circulating in the systemic bloodstream, removal of potentially harmful substances from the brain, release of molecules that transmit signals to cells in the brain parenchyma, as well as response to stimuli arising both in the brain and coming from the blood [22].



**Рис. 2.** Механизмы транспорта веществ через гематоэнцефалический барьер (по [28])  
**Fig. 2.** Mechanisms of transport of substances across the blood-brain barrier (according to [28])

трансmemбранной диффузии. В целях же обеспечения мозга субстратами для выработки энергии, синтеза белков и нуклеиновых кислот, поддержания pH и электролитов, транспорт малых полярных молекул (глюкозы, аминокислот, нуклеозидов, ионов, простагландинов и других) через клеточные мембраны ГЭБ осуществляется растворимыми белками-носителями. Пептиды и крупные белки переносятся через ГЭБ путем рецептор-опосредованного транцитоза и эндоцитоза, которые не только энергозависимы и насыщаемы, но и зависят от везикулярного транспорта [29].

Помимо барьерной функции, ГЭБ имеет специализированные функции, которые отвечают за гомеостаз ЦНС, питание и связь между тканью мозга и другими частями тела.

The blood-cerebrospinal fluid barrier is represented by ependyma, consisting of ciliated ependymocytes. According to modern concepts, these cells provide trophic and metabolic support to the cells of the brain microenvironment, take part in the production and secretion of cerebrospinal fluid, steroidogenesis, selective penetration of water into cells or its removal from cells, control of the sodium level in the extracellular fluid, and ensure the formation of the ependymal (blood-cerebrospinal fluid) barrier [28].

The barrier role of ependymocytes is provided by the presence of different types of intercellular contacts and anchor proteins. In the area of the apical surface, ependymocytes are interconnected by means of adherens junctions; in the middle part between the cells there are gap junctions. The same contacts

## СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ГЕМАТОЛИКВОРНОГО БАРЬЕРА

Сосудистое сплетение гематоликворного барьера и танициты, помимо предотвращения проникновения в спинномозговую жидкость и интерстициальную жидкость головного мозга клеток крови, обеспечивают транспорт в мозг ряда циркулирующих в системном кровотоке веществ, удаление потенциально вредных веществ из мозга, выделение молекул, передающих сигналы клеткам в паренхиме мозга, а также реагирование на стимулы, возникающие как в мозге, так и приходящие из крови [22].

Гематоликворный барьер представлен эндимой, состоящей из реснитчатых эндимоцитов. Согласно современным представлениям, эти клетки оказывают трофическую и метаболическую поддержку клеток микроокружения мозга, принимают участие в выработке и секреции цереброспинальной жидкости, стероидогенезе, избирательном проникновении воды в клетки или выведении ее из клеток, контроле уровня натрия во внеклеточной жидкости и обеспечивают формирование самого эндимального (гематоликворного) барьера [28].

Барьерная роль эндимоцитов обеспечивается наличием разных типов межклеточных контактов и якорных белков. В области апикальной поверхности эндимоциты соединяются между собой посредством адгезивных контактов, в средней части между клетками присутствуют щелевые контакты. Такие же контакты имеются между эндимоцитами и астроцитами. Кроме этого, в отдельных областях ЦНС эндимоциты соединяются посредством плотных контактов [30].

В желудочках мозга эндимальные клетки совместно с микрососудами формируют сосудистое сплетение, продуцирующее ликвор. У людей образуется около 500–600 мл ликвора в день. Он обеспечивает питательную и гомеостатическую среду для мозга и циркулирует через желудочковые, субарахноидальные и параваскулярные пространства, а также через паренхиму головного мозга. Ликвор полностью обменивается в человеческом мозге примерно трижды за сутки [30].

Сосудистое сплетение является иммуноактивной тканью. Оно представляет собой площадку для обмена лейкоцитов и иммунного надзора. Его клетки активируют экспрессию провоспалительных цитокинов, молекул клеточной адгезии и главного комплекса гистосовместимости [21].

Большую роль в поддержании гомеостаза мозга играют специализированные клетки эндимы – танициты, которые морфологически отличаются от кубовидных эндимальных клеток, выстилающих желудочки, тем, что у них нет ресничек.

exist between endymocytes and astrocytes. In addition, in certain parts of the CNS, the endymocytes are connected through tight junctions [30].

In the ventricles of the brain, endymal cells, together with microvessels, form the choroid plexus producing cerebrospinal fluid. Humans produce about 500–600 ml of cerebrospinal fluid per day. It provides a nutrient and homeostatic environment for the brain and circulates through the ventricular, subarachnoid, and paravascular spaces, as well as through the brain parenchyma. Cerebrospinal fluid is completely turned over in the human brain approximately three times per 24-hours [30].

The choroid plexus is an immunoreactive tissue. It is a platform for the exchange of leukocytes and immune surveillance. Its cells activate the expression of pro-inflammatory cytokines, cell adhesion molecules, and the major histocompatibility complex [21].

An important role in maintaining brain homeostasis is played by specialized endymal cells – tancytes, which morphologically differ from the cuboidal endymal cells lining the ventricles in that they do not have cilia.

## MECHANISMS OF CHANGES IN BBB PERMEABILITY AND RELATIVE IMMUNE PRIVILEGE OF THE CNS

The BBB permeability changes with the course of a person's life: it is the highest in the first weeks of a child's life and extremely low in old age [21]. At the same time, the BBB is not static; it interacts with the CNS microenvironment and responds to its needs. Thus, its permeability can change under the action of signals from endothelial cells to astrocytes and neurons.

An increase in the BBB permeability, strictly speaking, is considered a pathological condition. The BBB disruption refers to a barrier dysfunction due to the loss of tight junctions, macropinocytosis, formation of fenestrae or cannula/vesicle-tubular structures, which allows substances such as serum proteins to enter the CNS. However, the term “BBB disruption” is often used much looser to describe the changes that allow leukocytes to enter the brain tissue [31].

There are several interrelated mechanisms that disrupt the barrier function of the BBB [21]:

1. Mechanical disruption of the BBB integrity, which leads to the endothelium dysfunction and hemorrhage into the brain tissue, and can be associated not only with traumatic brain injury, but also with intracranial hemorrhage and reperfusion injury after cerebral ischemia.

## МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЭБ И ОТНОСИТЕЛЬНАЯ ИММУННАЯ ПРИВИЛЕГИРОВАННОСТЬ ЦНС

Проницаемость ГЭБ меняется с течением жизни человека: наиболее высока она в первые недели жизни ребенка и крайне мала в старости [21]. При этом ГЭБ не статичен, он взаимодействует с микросредой ЦНС и реагирует на ее потребности. Так, его проницаемость может меняться под действием сигналов от эндотелиальных клеток к астроцитам и нейронам.

Повышение проницаемости ГЭБ, строго говоря, считается патологическим состоянием. Под нарушением ГЭБ понимают потерю нормальной барьерной функции в результате утраты плотных контактов, явления макропиноцитоза, образования фенестр или канюль/везикуло-трубчатых структур, что позволяет проникать в ЦНС таким веществам, как сывороточные белки. Однако термин «нарушение ГЭБ» часто используется гораздо более свободно для описания изменений, позволяющих проникать в мозговую ткань лейкоцитам [31].

Существует несколько взаимосвязанных друг с другом механизмов, нарушающих барьерную функцию ГЭБ [21]:

1. Механическое нарушение целостности ГЭБ, что приводит к повреждению эндотелия и кровоизлиянию в ткань мозга и может быть связано не только с черепно-мозговой травмой, но и внутричерепным кровоизлиянием и реперфузионной травмой после ишемии мозга.

2. Воспаление, которое является ключевым биологическим процессом в ответ на травмы и инфекции, также приводит к изменению барьерных и интерфейсных функций ГЭБ. Например, при невровоспалении или системном воспалительном процессе повреждение плотных контактов эндотелиоцитов может происходить под воздействием медиатора воспаления IL-1 $\beta$ , а именно: данный интерлейкин приводит к снижению экспрессии, нарушению локализации или посттрансляционной модификации белков плотных контактов.

Другие воспалительные медиаторы – брадикинин, гистамин, серотонин, арахидоновая кислота – повышают парацеллюлярную проницаемость ГЭБ. Также во время системного воспаления происходит деградация гликокаликса и базальной пластинки, что приводит к увеличению проницаемости эндотелия и повышению адгезии лейкоцитов к стенке сосудов в ЦНС.

3. Проникновение лейкоцитов в параваскулярное пространство мозга.

Если ранее ЦНС рассматривалась как абсолютно иммунопривилегированная область, в настоящее время считается, что иммунная приви-

2. Inflammation, which is a key biological process in response to injury and infection, also leads to changes in the barrier and interface functions of the BBB. For example, in neuroinflammation or a systemic inflammatory process, damage to tight junctions of endotheliocytes can occur under the influence of the inflammatory mediator IL-1 $\beta$ , namely: this interleukin leads to a decrease in expression, altered localization, or post-translational modification of tight junction proteins.

Other inflammatory mediators – bradykinin, histamine, serotonin, arachidonic acid – increase the paracellular permeability of the BBB. Also, during systemic inflammation, the degradation of the glycocalyx and basal lamina occurs, which leads to an increase in endothelium permeability and an adhesion of leukocytes to the vessel wall in the CNS.

3. Migration of leukocytes into the paravascular space of the brain.

If earlier the CNS was considered as an absolutely immunoprivileged area, it is now believed that the immune privilege of the CNS is relative [22]. It is believed that leukocytes in a healthy brain parenchyma are absent or occur in extremely small quantities. Their content in the cerebrospinal fluid of a healthy person can reach up to 5000/ml, and about 80% of the cells are CD4+ T cells. Thus, in the choroid plexus and meningeal compartments, T cells contribute to the immune defense of the brain, mediate responses to a brain tissue lesion and also regulate the physiological functions of the CNS [32].

Astrocytes are immunologically active elements and are a type of cells in the CNS that express the major histocompatibility complex class II [25].

Pericytes also contribute to the immune response in the nervous tissue. Due to their proximity to endothelial cells, they are powerful modulators of BBB functions, causing increased BBB permeability through physical dissociation of cells or secretion of factors (cytokines, chemokines) that alters endothelial diffusion, which facilitates the transport of immune cells to the brain, causes the spread of neuroinflammation by stimulating both resident and recruited from the bloodstream immune cells [22].

The exchange of immune cells between the blood and the brain under normal conditions is a highly regulated process. Their migration in the CNS may occur through the postcapillary venules into the subarachnoid space, through the blood-cerebrospinal fluid barrier of the choroid plexus into the cerebrospinal fluid, and through the blood-brain barrier into the brain parenchyma. The process of their “crossing” of the vascular wall can occur via trans- or para-

легированность ЦНС относительна [22]. Считается, что лейкоциты в здоровой паренхиме головного мозга отсутствуют или встречаются в крайне небольших количествах. Содержание их в ликворе здорового человека может достигать до 5000/мл и около 80 % клеток являются CD4+ Т-клетками. Так, в сосудистом сплетении и менингеальных компартаментах Т-клетки вносят свой вклад в иммунную защиту мозга, опосредуют реакции на повреждение мозговой ткани, а также регулируют физиологические функции ЦНС [32].

Астроциты являются иммунологически активными элементами и представляют собой тип клеток в ЦНС, экспрессирующих основной комплекс гистосовместимости II класса [25].

Свой вклад в иммунный ответ в нервной ткани вносят и перициты. Благодаря своей близости к эндотелиальным клеткам они являются мощными модуляторами функций ГЭБ, вызывая повышенную проницаемость ГЭБ путем физической диссоциации клеток или секреции факторов (цитокинов, хемокинов), изменяющих эндотелиальную диффузию, что облегчает транспорт иммунных клеток в мозг, вызывает распространение нейровоспаления путем стимуляции как резидентных, так и рекрутированных из кровотока иммунных клеток [22].

Обмен иммунными клетками между кровью и мозгом в норме является строго регулируемым процессом. Экстравазация их в ЦНС может проходить через посткапиллярные вены в субарахноидальное пространство, через гематоликворный барьер в сосудистом сплетении в ликвор и через гематоэнцефалический барьер в паренхиму мозга. Процесс «пересечения» ими сосудистой стенки может происходить транс- или парацеллюлярно и включает в себя ряд стадий адгезии, перекачивания, захвата, проползания и диапедеза [33].

Сосудистая система ЦНС, будучи структурно и функционально отличной от других органов, отличается в своем контроле миграции лимфоцитов. Начальные стадии процесса опосредуются взаимодействием молекул адгезии (селектинов) эндотелиальных клеток с гликопротеидами (интегринами) поверхности активированных лимфоцитов. Так, молекула адгезии ICAM-1 экспрессируется в большом количестве в сосудах ЦНС, и поэтому считается, что она может играть важную роль в рекрутировании клеток из кровотока в ткань мозга [34].

В результате взаимодействия между хемокинами, секретруемыми эндотелием, и соответствующими хемокиновыми рецепторами, экспрессируемыми на лимфоцитах, происходят конформационные изменения интегринов, способ-

cellular pathway and includes a number of stages of adhesion, rolling, trapping, crawling and diapedesis [33].

The CNS vascular system, while structurally and functionally distinct from other organs, differs in its control of lymphocyte migration. The initial stages of the process are mediated by the interaction of adhesion molecules (selectins) of endothelial cells with glycoproteins (integrins) of the surface of activated lymphocytes. For example, the adhesion molecule ICAM-1 is highly expressed in the CNS vessels, and therefore it is believed it can play an important role in cell recruitment from the blood circulation to the brain tissue [34].

As a result of the interaction between chemokines secreted by the endothelium and the corresponding chemokine receptors expressed on lymphocytes, integrins undergo conformational changes, thereby contributing to their firm adhesion to endothelial cells. Further, lymphocytes “crawl” along the endothelial barrier against the blood flow, which is also mediated by selectins. Activation of the intracellular part of the adhesion molecule stimulates the rearrangement of the endothelial cell cytoskeleton, which facilitates the diapedesis of cells through it into the perivascular space of the brain [34].

The lymphocyte can also migrate in the blood – brain direction just at the sites of tight junctions, weakened under the influence of pro-inflammatory factors. Selectins expressed by endothelial cells are retained in intracellular vesicles called Weibel bodies. The latter respond to inflammatory mediators, providing rapid regulation of selectin expression on the luminal membrane. Since endothelial cells are the main CNS cells expressing the IL-1R1 receptor (type 1 receptor for IL-1), IL-1 $\beta$  is an important mediator that ensures the transport of leukocytes through the BBB during both neuroinflammation and general inflammatory responses of the body [33].

### MECHANISMS OF CROSSING THE BBB BY TUMOR LYMPHOCYTES

The stages of migration of lymphoma cells through the BBB are similar to the penetration of normal lymphocytes into the CNS, while the differences are due to different physiological, molecular, and mechanical characteristics of healthy immune and tumor elements (Fig. 3) [35]. It has been established that the adhesion of tumor cells occurs at the level of capillaries and postcapillary venules. At the same time, they require much more time for extravasation in the CNS. Arrested in the vasculature of the brain cells first take an elongated shape, and then

ствую тем самым их прочной адгезии к эндотелиальным клеткам. Далее лимфоциты «ползут» вдоль эндотелиального барьера против кровотока, что также опосредовано селектинами. Активация внутриклеточной части молекулы адгезии стимулирует перестройку цитоскелета эндотелиоцита, что облегчает диапедез через него клеток в периваскулярное пространство мозга [34].

Лимфоцит также может мигрировать в направлении кровь – мозг непосредственно в местах плотных контактов, «ослабленных» под действием провоспалительных факторов. Экспрессируемые эндотелиальными клетками селектины удерживаются во внутриклеточных везикулах, называемых телами Вибеля. Последние реагируют на медиаторы воспаления, обеспечивая быструю регуляцию экспрессии селектинов на просветной мембране. Поскольку эндотелиоциты являются основными клетками ЦНС, экспрессирующими рецептор IL-1R1 (рецептор 1-го типа к IL-1), IL-1 $\beta$  является важным медиатором, обеспечивающим транспорт лейкоцитов через ГЭБ как при нейровоспалении, так и при общевоспалительных реакциях организма [33].

### МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕСЕЧЕНИЯ ГЭБ ОПУХОЛЕВЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ

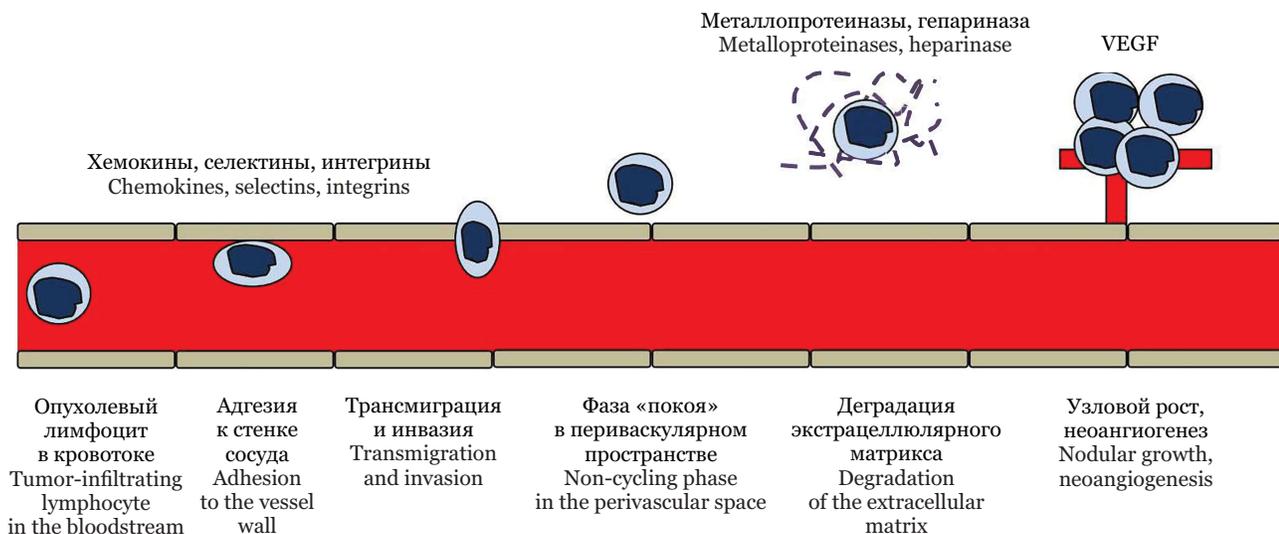
Этапы миграции лимфомных клеток через ГЭБ имеют сходство с проникновением нормальных лимфоцитов в ЦНС, отличия же обусловлены различными физиологическими, молекулярными и механическими характеристиками здоровых иммунных и опухолевых элементов (рис. 3) [35]. Установлено, что адгезия опухоле-

round up and stretch the walls of the vessels. Diapedesis itself through holes in the endothelium probably proceeds quickly, but it takes several days for metastatic elements to reach the extraluminal position. Although extravasation of individual cells is the dominant mechanism for the formation of brain metastases, in some cases the intravascular proliferation of tumor cells can occur, leading to complete vascular obstruction and disruption of the BBB [36].

Some studies have shown that patients without CNS lymphoma had significantly lower levels of MMP-9 (matrix metalloproteinase 9), CCL2 (C-C motif ligand 2), sVCAM-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1) in cerebrospinal fluid in comparison with patients with the nervous tissue involvement, which was not observed when studying these molecules in blood serum. These data indicate a higher specificity of cerebrospinal fluid biomarkers compared to serum biomarkers in predicting and diagnosing lymphoma metastasis in the CNS [37].

sVCAM-1 is involved in the arrest of tumor cells and their subsequent extravasation through the brain endothelium. A higher level of its expression may increase the possibility of tumor cells interacting with the endothelium and their migration into the CNS [38].

Cytokines and chemokines play an important role in the processes of BBB crossing by lymphoma cells. They modulate interactions between tight junction proteins, which are the first barrier that cells must overcome to enter the CNS. It is also known that CCL2, CXCR4/CXCL12 and CXCR5/CXCL13 (chemokine receptors of the CXC family) play an important role in the CNS tropism of diffuse large B-cell



**Рис. 3.** Этапы метастазирования лимфомных клеток через гематоэнцефалический барьер  
**Fig. 3.** Stages of lymphoma cells metastasis through the blood-brain barrier

вых клеток происходит на уровне капилляров и посткапиллярных венул. При этом им требуется значительно больше времени для экстравазации в ЦНС. Задержанные в сосудистой сети головного мозга клетки сначала принимают вытянутую форму, а затем округляются и растягивают стенки сосудов. Сам диапедез через отверстия в эндотелии, вероятно, протекает быстро, но достижение метастатическими элементами экстралюминального положения занимает несколько дней. Хотя экстравазация отдельных клеток является доминирующим механизмом формирования метастазов в головном мозге, в некоторых случаях может происходить внутрисосудистая пролиферация опухолевых клеток, что приводит к полной обструкции сосуда и нарушению ГЭБ [36].

В некоторых исследованиях было показано, что пациенты без поражения ЦНС лимфомой имели значимо более низкие уровни MMP-9 (матриксная металлопротеиназа 9 – matrix metalloproteinase 9), CCL2 (хемокин семейства CC – C-C motif ligand 2), sVCAM-1 (растворимая форма молекулы адгезии сосудистого эндотелия типа 1 – soluble vascular cell adhesion molecule-1) в ликворе в сравнении с пациентами с вовлечением нервной ткани, что не наблюдалось при изучении данных молекул в сыворотке крови. Эти данные указывают на более высокую специфичность биомаркеров ликвора по сравнению с сывороточными биомаркерами в прогнозировании и диагностике метастазирования лимфомы в ЦНС [37].

Растворимая форма молекулы адгезии sVCAM-1 участвует в задержке опухолевых клеток и последующей их экстравазации через эндотелий головного мозга. Более высокий уровень ее экспрессии может увеличивать возможность взаимодействия опухолевых клеток с эндотелием и проникновения их в ЦНС [38].

Важную роль в процессах пересечения ГЭБ лимфомными клетками играют цитокины и хемокины. Они модулируют взаимодействие между белками плотных контактов, являющимися первым барьером, который клетки должны преодолеть для попадания в ЦНС. Известно также, что CCL2, CXCR4/CXCL12 и CXCR5/CXCL13 (рецепторы хемокинов семейства CXС) играют важную роль в тропизме к ЦНС клеток диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы. Цитокин CCL2 может продуцироваться нейронами, астроцитами, микроглией, а также клетками сосудистого сплетения. У пациентов с вторичным поражением ЦНС лимфомой отмечается значительно более высокий уровень CCL2 в ликворе, чем в сыворотке крови [37].

lymphoma cells. The cytokine CCL2 can be produced by neurons, astrocytes, microglia, and choroid plexus cells. Patients with secondary CNS lymphoma have significantly higher CCL2 levels in cerebrospinal fluid than in serum [37].

Proteolytic enzymes produced by cells involved in inflammatory processes and capable of destroying almost all macromolecules in the extracellular matrix, called matrix metalloproteinases, as well as vascular endothelial growth factor (VEGF), disrupt the integrity of tight junctions. And MMP-9 is also crucial for the cleavage of the basement membrane, which facilitates the penetration of tumor lymphocytes into the CNS [22].

Thus, according to the studies, such molecules as MMP-9, CCL2, sVCAM-1 play an important role in the metastatic cascade of lymphoid tumors. Their elevated levels correlate with metastasis of leukemias and lymphomas in the CNS. It is also possible that they are closely associated with increased tropism of tumor lymphoid cells to the vascular endothelium of the nervous tissue [37].

## SURVIVAL MECHANISMS OF MALIGNANT CELLS IN THE CNS

Studies show that for the successful formation of tumor foci in the CNS, malignant cells must not only reach the brain vascular system, attach to the endothelial cells of microvessels, extravasate into the parenchyma, but also be able to further proliferate in the brain tissue and induce neoangiogenesis [39].

The BBB, as described above, is the densest endothelial barrier in the body and creates an obstacle to the movement of not only solutes, but also cells. Due to these properties, it can play a dual role in the formation of metastases: on the one hand, protecting the CNS from the penetration of tumor cells, and on the other hand, actively participating in the protection of metastatic cells after their penetration into the nervous tissue [36].

Experiments have shown that the contribution of endothelial cells to the spread of tumor cells throughout the body is apparently organ-specific. While in the lungs and liver, endotheliocytes crawl onto the surface of metastatic cells, in the brain, their retraction is observed. It has been suggested that after the migration of tumor cells into the CNS, the BBB is restored and prevents the delivery of drugs and immune cells to the tumor [36].

BBB endothelial cells may provide an ideal environment for the survival of tumor cells in the CNS in close proximity to them. After crossing the BBB, metastatic elements are not only protected

Протеолитические ферменты, вырабатываемые участвующими в воспалительных процессах клетками и способные разрушать практически все макромолекулы, находящиеся в межклеточном матриксе, называемые матриксными металлопротеиназами, а также сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) нарушают целостность плотных контактов. А MMP-9 еще и имеет решающее значение для расщепления базальной мембраны, что облегчает проникновение опухолевых лимфоцитов в ЦНС [22].

Таким образом, согласно проведенным исследованиям, такие молекулы, как MMP-9, CCL2, sVCAM-1, играют важную роль в метастатическом каскаде опухолей лимфоидной природы. Их повышенные уровни коррелируют с метастазированием лейкозов и лимфом в ЦНС. Возможно также, что они тесно связаны с усилением тропизма опухолевых лимфоидных клеток к эндотелию сосудов нервной ткани [37].

### МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК В ЦНС

Исследования показывают, что для успешного образования очагов опухоли в ЦНС злокачественные клетки должны не только достичь сосудистой системы мозга, прикрепиться к эндотелиальным клеткам микрососудов, экстравазировать в паренхиму, но еще и быть способными далее пролиферировать в мозговой ткани и индуцировать неангиогенез [39].

ГЭБ, как было описано выше, представляет собой самый плотный эндотелиальный барьер в организме и создает препятствие для движения не только растворенных веществ, но и клеток. За счет этих свойств он может играть двойную роль в формировании метастазов: с одной стороны, защищая ЦНС от проникновения опухолевых клеток, а с другой – активно участвуя в защите метастатических клеток после проникновения их в нервную ткань [36].

В экспериментах показано, что вклад эндотелиальных клеток в процессы распространения опухолевых клеток по организму, по-видимому, органоспецифичен. В то время как в легких и печени эндотелиоциты «наползают» на поверхность метастатических клеток, в головном мозге наблюдается их ретракция. Высказано предположение, что после прохождения опухолевых клеток в ЦНС ГЭБ восстанавливается и препятствует доставке лекарств и иммунных клеток к опухоли [36].

Эндотелиальные клетки ГЭБ могут обеспечить идеальную среду для выживания опухолевых клеток в ЦНС в непосредственной близости от них. После пересечения ГЭБ метастатические

from the body's immune surveillance, but also the cellular components of the nervous tissue itself are able to release substances favorable for tumor growth [40].

Once in the CNS, the growth and spread of malignant cells depends entirely on the establishment of an adequate blood supply. The activity of angiogenesis is determined by the balance between proangiogenic and antiangiogenic molecules at the local tissue level. It can occur both due to true germination – i.e. by branching of new capillaries from pre-existing vessels, and be the result of expansion, splitting and fusion of pre-existing vessels caused by the proliferation of endothelial cells in the blood vessel wall. VEGF plays a key role in physiological and pathological neoangiogenesis. It stimulates not only the proliferation and migration of endothelial cells, but also induces the expression of metalloproteinases by these cells [41].

In conclusion, we would like to note that the process of metastasis is highly selective for cells that can complete all stages of this process. In addition, the following fact attracts attention: some types of malignant neoplasms metastasize to the brain more often than others [42]. It is believed that most primary tumor cells are capable of metastasizing, their dissemination occurs very early, and this phenomenon may be based on specific genomic changes in malignant cells [43].

**Research Funding.** The study was performed within the framework of the budget topic under the State assignment No. AAAA-A17-117112850280-2.

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

элементы не только защищены от иммунного надзора организма, но еще и клеточные компоненты самой нервной ткани способны выделять вещества, благоприятные для роста опухоли [40].

После попадания в ЦНС рост и распространение злокачественных клеток полностью зависит от установления адекватного кровоснабжения. Активность ангиогенеза определяется балансом между проангиогенными и антиангиогенными молекулами на локальном тканевом уровне. Он может происходить как за счет истинного прорастания – т.е. путем разветвления новых капилляров из уже существующих сосудов, так и являться результатом расширения, расщепления и слияния ранее существовавших сосудов, вызванных пролиферацией эндотелиальных клеток в стенке кровеносного сосуда. Фактор роста сосудов VEGF

играет ключевую роль в физиологическом и патологическом неоангиогенезе. Он стимулирует не только пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, но и индуцирует экспрессию металлопротеиназ этими клетками [41].

В заключение хочется отметить, что процесс метастазирования является высокоселективным для клеток, которые могут завершить все этапы этого процесса. Кроме того, обращает на себя внимание следующий факт: некоторые виды злокачественных новообразований чаще других дают метастазы в мозг [42]. При этом считается,

что большинство клеток первичной опухоли способны к метастазированию, диссеминация их происходит очень рано, а в основе данного феномена могут лежать специфические геномные изменения злокачественных клеток [43].

**Финансирование работы.** Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Al-Hamadani M., Haabermann T.M., Cerhan J.R. et al. Non-Hodgkin lymphoma subtype distribution, geodemographic patterns, and survival in the US: a longitudinal analysis of the National Cancer Data Base from 1998 to 2011 // *Am. J. Hematol.* 2015;90(9):790–795. DOI: 10.1002/ajh.24086.
2. Teras L.R., DeSantis C.E., Cerhan J.R. et al. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes // *CA Cancer. J. Clin.* 2016;66(6):443–459. DOI: 10.3322/caac.21357.
3. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. 2018. URL: <https://rusoncohem.ru/klinrec/klin-rekomendatsii-limfoproliferativnykh-zabolevaniy> (дата обращения: 23.12.2021).
4. Ollila T.A., Olszewski A.J. Extranodal diffuse large B cell lymphoma: molecular features, prognosis, and risk of central nervous system recurrence // *Curr. Treat. Options Oncol.* 2018;19(8):38. DOI: 10.1007/s11864-018-0555-8.
5. Kridel R., Dietrich P.Y. Prevention of CNS relapse in diffuse large B-cell lymphoma // *Lancet Oncol.* 2011;12(13):1258–1266. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70140-1.
6. Grimm K.E., O'Malley D.P. Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues // *Ann. Diagn. Pathol.* 2019;38:6–10. DOI: 10.1016/j.anndiagnpath.2018.09.014.
7. Fox C.P., Phillips E.H., Smith J. et al. Guidelines for the diagnosis and management of primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma // *Br. J. Haematol.* 2019;184(3):348–363. DOI: 10.1111/bjh.15661.
8. DeRosa P., Cappuzzo J.M., Sherman J.H. Isolated recurrence of secondary CNS lymphoma: case report and literature review // *J. Neurol. Surg. Rep.* 2014;75(01):e154–e159. DOI: 10.1055/s-0034-1378152.
9. Fox C.P. Refining CNS relapse risk in DLBCL: as easy as ABC // *Blood.* 2019;133(9):886–888. DOI: 10.1182/blood-2019-01-897595.
10. Schmitz N., Zeynalova S., Nickelsen M. et al. CNS International Prognostic Index: a risk model for CNS relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP // *J. Clin. Oncol.* 2016;34(26):3150–3156. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.6520.

## REFERENCES

1. Al-Hamadani M., Haabermann T.M., Cerhan J.R. et al. Non-Hodgkin lymphoma subtype distribution, geodemographic patterns, and survival in the US: a longitudinal analysis of the National Cancer Data Base from 1998 to 2011. *Am. J. Hematol.* 2015;90(9):790–795. DOI: 10.1002/ajh.24086.
2. Teras L.R., DeSantis C.E., Cerhan J.R. et al. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA Cancer. J. Clin.* 2016;66(6):443–459. DOI: 10.3322/caac.21357.
3. Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. 2018. URL: <https://rusoncohem.ru/klinrec/klin-rekomendatsii-limfoproliferativnykh-zabolevaniy> (accessed 23.12.2021).
4. Ollila T.A., Olszewski A.J. Extranodal diffuse large B cell lymphoma: molecular features, prognosis, and risk of central nervous system recurrence. *Curr. Treat. Options Oncol.* 2018;19(8):38. DOI: 10.1007/s11864-018-0555-8.
5. Kridel R., Dietrich P.Y. Prevention of CNS relapse in diffuse large B-cell lymphoma. *Lancet Oncol.* 2011;12(13):1258–1266. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70140-1.
6. Grimm K.E., O'Malley D.P. Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. *Ann. Diagn. Pathol.* 2019;38:6–10. DOI: 10.1016/j.anndiagnpath.2018.09.014.
7. Fox C.P., Phillips E.H., Smith J. et al. Guidelines for the diagnosis and management of primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2019;184(3):348–363. DOI: 10.1111/bjh.15661.
8. DeRosa P., Cappuzzo J.M., Sherman J.H. Isolated recurrence of secondary CNS lymphoma: case report and literature review. *J. Neurol. Surg. Rep.* 2014;75(01):e154–e159. DOI: 10.1055/s-0034-1378152.
9. Fox C.P. Refining CNS relapse risk in DLBCL: as easy as ABC. *Blood.* 2019;133(9):886–888. DOI: 10.1182/blood-2019-01-897595.
10. Schmitz N., Zeynalova S., Nickelsen M. et al. CNS International Prognostic Index: a risk model for CNS relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J. Clin. Oncol.* 2016;34(26):3150–3156. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.6520.

11. Peñalver F.J., Sancho J.M., de la Fuente A. et al. Guidelines for diagnosis, prevention and management of central nervous system involvement in diffuse large B-cell lymphoma patients by the Spanish Lymphoma Group (GELTAMO) // *Haematologica*. 2017;102(2):235–245. DOI: 10.3324/haematol.2016.149120.
12. Tai W.M., Chung J., Tang P.L. et al. Central nervous system (CNS) relapse in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): pre- and post-rituximab // *Ann. Hematol.* 2011;90(7):809–818. DOI: 10.1007/s00277-010-1150-7.
13. Thieblemont C., Bernard S., Meignan M., Molina T. Optimizing initial therapy in DLBCL // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2018;31(3):199–208. DOI: 10.1016/j.beha.2018.08.001.
14. Boehme V., Schmitz N., Zeynalova S., Loeffler M., Preunsschuh M. CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL) // *Blood*. 2009;113(17):3896–3902. DOI: 10.1182/blood-2008-10-182253.
15. Zahid M.F., Khan N., Hashmi S.K., Kizilbash S.H., Barta S.K. Central nervous system prophylaxis in diffuse large B-cell lymphoma // *Eur. J. Haematol.* 2016;97(2):108–120. DOI: 10.1111/ejh.12763.
16. Hall K.H., Hall-Panjic E., Valla K., Flowers C.R., Cohen J.B. How to decide which DLBCL patients should receive CNS prophylaxis // *Oncology (Williston Park)*. 2018;32(6):303–309.
17. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms // *Blood*. 2016;127(20):2375–2390. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569.
18. El-Galaly T.C., Villa D., Michaelsen T.Y. et al. The number of extranodal sites assessed by PET/CT scan is a powerful predictor of CNS relapse for patients with diffuse large B-cell lymphoma: An international multicenter study of 1532 patients treated with chemoimmunotherapy // *Eur. J. Cancer*. 2017;75:195–203. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.029.
19. Angeli E., Nguyen T.T., Janin A., Bousquet G. How to make anticancer drugs cross the blood–brain barrier to treat brain metastases // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(1):22. DOI: 10.3390/ijms21010022.
20. Fortress: The blood brain barrier. URL: <https://medicalxpress.com/news/2017-09-science-brain-fortress-like-barrier.html?deviceType=mobile> (дата обращения: 28.12.2021).
21. Горбачев М.И., Брагина Н.В. Гематоэнцефалический барьер с позиции анестезиолога-реаниматолога. Обзор литературы. Часть 1 // *Вестн. интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020;3:35–45. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-35-45.
22. Erickson M.A., Banks W.A. Neuroimmune axes of the blood–brain barriers and blood–brain interfaces: bases for physiological, regulation, disease states, and pharmacological interventions // *Pharmacol. Rev.* 2018;70(2):278–314. DOI: 10.1124/pr.117.014647.
23. Сущков С.А., Лебедева Е.И., Мяделец О.Д. Перicytes как потенциальный источник неоангиогенеза // *Новости хирургии*. 2019;27(2):212–221. DOI: 10.18484/2305-0047.2019.2.212.
24. Reed M.J., Vernon R.B., Damodarasamy M. et al. Microvasculature of the mouse cerebral cortex exhibits
11. Peñalver F.J., Sancho J.M., de la Fuente A. et al. Guidelines for diagnosis, prevention and management of central nervous system involvement in diffuse large B-cell lymphoma patients by the Spanish Lymphoma Group (GELTAMO). *Haematologica*. 2017;102(2):235–245. DOI: 10.3324/haematol.2016.149120.
12. Tai W.M., Chung J., Tang P.L. et al. Central nervous system (CNS) relapse in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): pre- and post-rituximab. *Ann. Hematol.* 2011;90(7):809–818. DOI: 10.1007/s00277-010-1150-7.
13. Thieblemont C., Bernard S., Meignan M., Molina T. Optimizing initial therapy in DLBCL. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2018;31(3):199–208. DOI: 10.1016/j.beha.2018.08.001.
14. Boehme V., Schmitz N., Zeynalova S., Loeffler M., Preunsschuh M. CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood*. 2009;113(17):3896–3902. DOI: 10.1182/blood-2008-10-182253.
15. Zahid M.F., Khan N., Hashmi S.K., Kizilbash S.H., Barta S.K. Central nervous system prophylaxis in diffuse large B-cell lymphoma. *Eur. J. Haematol.* 2016;97(2):108–120. DOI: 10.1111/ejh.12763.
16. Hall K.H., Hall-Panjic E., Valla K., Flowers C.R., Cohen J.B. How to decide which DLBCL patients should receive CNS prophylaxis. *Oncology (Williston Park)*. 2018;32(6):303–309.
17. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–2390. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569.
18. El-Galaly T.C., Villa D., Michaelsen T.Y. et al. The number of extranodal sites assessed by PET/CT scan is a powerful predictor of CNS relapse for patients with diffuse large B-cell lymphoma: An international multicenter study of 1532 patients treated with chemoimmunotherapy. *Eur. J. Cancer*. 2017;75:195–203. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.029.
19. Angeli E., Nguyen T.T., Janin A., Bousquet G. How to make anticancer drugs cross the blood–brain barrier to treat brain metastases. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(1):22. DOI: 10.3390/ijms21010022.
20. Fortress: The blood brain barrier. URL: <https://medicalxpress.com/news/2017-09-science-brain-fortress-like-barrier.html?deviceType=mobile> (accessed 28.12.2021).
21. Gorbachev M.I., Bragina N.V. Blood-brain barrier from the point of view of anesthesiologist. Review. Part 1. *Annals of Critical Care*. 2020;3:35–45. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-35-45.
22. Erickson M.A., Banks W.A. Neuroimmune axes of the blood–brain barriers and blood–brain interfaces: bases for physiological, regulation, disease states, and pharmacological interventions. *Pharmacol. Rev.* 2018;70(2):278–314. DOI: 10.1124/pr.117.014647.
23. Sushkov S.A., Lebedeva E.I., Myadelets O.D. Pericytes as a potential source of neoangiogenesis. *Novosti Khirurgii*. 2019;27(2):212–221. DOI: 10.18484/2305-0047.2019.2.212.
24. Reed M.J., Vernon R.B., Damodarasamy M. et al. Microvasculature of the mouse cerebral cortex exhibits

- increased accumulation and synthesis of hyaluronan with aging // *J. Gerontol. Series A*. 2017;72(6):740–746. DOI: 10.1093/gerona/glw213.
25. Кондратьев А.Н., Ценципер Л.М. Глимфатическая система мозга: строение и практическая значимость // *Анестезиология и реаниматология*. 2019;6:72–80. DOI: 10.17116/anaesthesiology201906172.
  26. Shabab T., Khanabdali R., Moghadamtousi S.Z., Kadir H.A., Mohan G. Neuroinflammation pathways: a general review // *Int. J. Neurosci.* 2017;127(7):624–633. DOI: 10.1080/00207454.2016.1212854.
  27. Cherry J.D., Olschowka J.A., O'Banion M.K. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed // *J. Neuroinflammation*. 2014;11:98. DOI: 10.1186/1742-2094-11-98.
  28. Belykh E., Shaffer K.V., Lin C. et al. Blood-brain barrier, blood-brain tumor barrier, and fluorescence-guided neurosurgical oncology: delivering optical labels to brain tumors // *Front. Oncol.* 2020;10:739. DOI: 10.3389/fonc.2020.00739.
  29. Georgieva J.V., Hoekstra D., Zuhorn I.S. Smuggling drugs into the brain: an overview of ligands targeting transcytosis for drug delivery across the blood–brain barrier // *Pharmaceutics*. 2014;6(4):557–583. DOI: 10.3390/pharmaceutics6040557.
  30. Успенская Ю.А., Моргун А.В., Осипова Е.Д., Антонова С.К., Салмина А.Б. Эпендимоциты головного мозга в нейрогенезе и регуляции структурно-функциональной целостности гемато-ликворного барьера // *Фундамент. и клин. медицина*. 2019;4(3):83–94. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-3-83-9.
  31. Saunders N.R., Dziegielewska K.M., Møllgård K., Habgood M.D. Markers for blood–brain barrier integrity: how appropriate is Evans blue in the twenty-first century and what are the alternatives // *Front. Neurosci.* 2015;9:385. DOI: 10.3389/fnins.2015.00385.
  32. Filiano A.J., Gadani S.P., Kipnis J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain // *Nat. Rev. Neurosci.* 2017;18(6):375–384. DOI: 10.1038/nrn.2017.39.
  33. Schulte-Mecklenbeck A., Bhatia U., Schneider-Hohendorf T. et al. Analysis of lymphocyte extravasation using an *in vitro* model of the human blood-brain barrier // *J. Vis. Exp.* 2017;122:e55390. DOI: 10.3791/55390.
  34. Greenwood J., Wang Y., Calder V.L. Lymphocyte adhesion and transendothelial migration in the central nervous system: the role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1 // *Immunology*. 1995;86(3):408–415. PMID: PMC1383944.
  35. McKim D.B., Weber M.D., Niraula A. et al. Microglial recruitment of IL-1 $\beta$ -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety // *Mol. Psychiatry*. 2018;23(6):1421–1431. DOI: 10.1038/mp.2017.64.
  36. Wilhelm I., Molnár J., Fazakas C., Hasko J., Krizbai I.A. Role of the blood-brain barrier in the formation of brain metastases // *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14:1383–1411. DOI: 10.3390/ijms14011383.
  37. Yu W., Si M., Li L. et al. Biomarkers reflecting the destruction of the blood-brain barrier are valuable in predicting the risk of lymphomas with central nervous system involvement // *Onco Targets Ther.* 2019;12:9505–9512. DOI: 10.2147/OTT.S222432.
  - increased accumulation and synthesis of hyaluronan with aging. *J. Gerontol. Series A*. 2017;72(6):740–746. DOI: 10.1093/gerona/glw213.
  25. Kondratyev A.N., Tsentsiper L.M. Glymphatic system of the brain: structure and practical significance. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2019;6:72–80. DOI: 10.17116/anaesthesiology201906172.
  26. Shabab T., Khanabdali R., Moghadamtousi S.Z., Kadir H.A., Mohan G. Neuroinflammation pathways: a general review. *Int. J. Neurosci.* 2017;127(7):624–633. DOI: 10.1080/00207454.2016.1212854.
  27. Cherry J.D., Olschowka J.A., O'Banion M.K. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *J. Neuroinflammation*. 2014;11:98. DOI: 10.1186/1742-2094-11-98.
  28. Belykh E., Shaffer K.V., Lin C. et al. Blood-brain barrier, blood-brain tumor barrier, and fluorescence-guided neurosurgical oncology: delivering optical labels to brain tumors. *Front. Oncol.* 2020;10:739. DOI: 10.3389/fonc.2020.00739.
  29. Georgieva J.V., Hoekstra D., Zuhorn I.S. Smuggling drugs into the brain: an overview of ligands targeting transcytosis for drug delivery across the blood–brain barrier. *Pharmaceutics*. 2014;6(4):557–583. DOI: 10.3390/pharmaceutics6040557.
  30. Uspenskaya Yu.A., Morgun A.V., Osipova E.D., Antonova S.K., Salmina A.B. Brain ependymocytes in neurogenesis and maintaining integrity of blood-cerebrospinal fluid barrier. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019;4(3):83–94. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-3-83-9.
  31. Saunders N.R., Dziegielewska K.M., Møllgård K., Habgood M.D. Markers for blood–brain barrier integrity: how appropriate is Evans blue in the twenty-first century and what are the alternatives. *Front. Neurosci.* 2015;9:385. DOI: 10.3389/fnins.2015.00385.
  32. Filiano A.J., Gadani S.P., Kipnis J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2017;18(6):375–384. DOI: 10.1038/nrn.2017.39.
  33. Schulte-Mecklenbeck A., Bhatia U., Schneider-Hohendorf T. et al. Analysis of lymphocyte extravasation using an *in vitro* model of the human blood-brain barrier. *J. Vis. Exp.* 2017;122:e55390. DOI: 10.3791/55390.
  34. Greenwood J., Wang Y., Calder V.L. Lymphocyte adhesion and transendothelial migration in the central nervous system: the role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1. *Immunology*. 1995;86(3):408–415. PMID: PMC1383944.
  35. McKim D.B., Weber M.D., Niraula A. et al. Microglial recruitment of IL-1 $\beta$ -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety. *Mol. Psychiatry*. 2018;23(6):1421–1431. DOI: 10.1038/mp.2017.64.
  36. Wilhelm I., Molnár J., Fazakas C., Hasko J., Krizbai I.A. Role of the blood-brain barrier in the formation of brain metastases. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14:1383–1411. DOI: 10.3390/ijms14011383.
  37. Yu W., Si M., Li L. et al. Biomarkers reflecting the destruction of the blood-brain barrier are valuable in predicting the risk of lymphomas with central nervous system involvement. *Onco Targets Ther.* 2019;12:9505–9512. DOI: 10.2147/OTT.S222432.

38. Soto M.S., Serres S., Anthony D.C., Sibson N.R. Functional role of endothelial adhesion molecules in the early stages of brain metastasis // *Neuro-Oncol.* 2014;16(4):540–551. DOI: 10.1093/neuonc/not222.
39. Fidler I.J. The biology of brain metastasis: challenges for therapy // *Cancer J.* 2015;21(4):284–293. doi: 10.1097/PPO.000000000000126.
40. Корнева Ю.С., Украинец Р.В. Принципы формирования премегастатической ниши // *Современная онкология.* 2019;21(4):6–9. DOI: 10.26442/18151434.2019.4.190715.
41. Yano S., Shinohara H., Herbst R.S. et al. Expression of vascular endothelial growth factor is necessary but not sufficient for production and growth of brain metastasis // *Cancer Res.* 2000;60(17):4959–4967.
42. Berghoff A.S., Schur S., Füreder L.M. et al. Descriptive statistical analysis of a real life cohort of 2419 patients with brain metastases of solid cancers // *ESMO Open.* 2016;1(2):e000024. DOI: 10.1136/esmoopen-2015-000024.
43. Franchino F., Rudà R., Soffietti R. Mechanisms and therapy for cancer metastasis to the brain // *Front. Oncol.* 2018;8:161. DOI: 10.3389/fonc.2018.00161.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Воропаева Елена Николаевна** — д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

**Карпова Виктория Сергеевна** — врач-гематолог ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6887-3172.

**Пospelova Татьяна Ивановна** — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии, проректор по научной работе ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

**Максимов Владимир Николаевич** — д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

**Воронцова Екатерина Валерьевна** — заведующий гематологическим отделением с блоком асептических палат ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

38. Soto M.S., Serres S., Anthony D.C., Sibson N.R. Functional role of endothelial adhesion molecules in the early stages of brain metastasis. *Neuro-Oncol.* 2014;16(4):540–551. DOI: 10.1093/neuonc/not222.
39. Fidler I.J. The biology of brain metastasis: challenges for therapy. *Cancer J.* 2015;21(4):284–293. DOI: 10.1097/PPO.000000000000126.
40. Korneva Yu.S., Ukrainets R.V. Principles of premetastatic niche formation. *Journal of Modern Oncology.* 2019;21(4):6–9. DOI: 10.26442/18151434.2019.4.190715.
41. Yano S., Shinohara H., Herbst R.S. et al. Expression of vascular endothelial growth factor is necessary but not sufficient for production and growth of brain metastasis. *Cancer Res.* 2000;60(17):4959–4967.
42. Berghoff A.S., Schur S., Füreder L.M. et al. Descriptive statistical analysis of a real life cohort of 2419 patients with brain metastases of solid cancers. *ESMO Open.* 2016;1(2):e000024. DOI: 10.1136/esmoopen-2015-000024.
43. Franchino F., Rudà R., Soffietti R. Mechanisms and therapy for cancer metastasis to the brain. *Front. Oncol.* 2018;8:161. DOI: 10.3389/fonc.2018.00161.

### ABOUT THE AUTHORS

**Elena N. Voropaeva** – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

**Viktoriya S. Karpova** – Hematologist, Private healthcare institution “Clinical Hospital ‘RZD-Medicine’ Novosibirsk”, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6887-3172.

**Tatyana I. Pospelova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Vice-Rector for Research, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

**Vladimir N. Maksimov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

**Ekaterina V. Vorontsova** – Head, Hematology Department with a Block of Aseptic Wards, Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, 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](http://www.ngmu.ru/cozo/mos));

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. [www.ngmu.ru](http://www.ngmu.ru)); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

**ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ**

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также предоставляются сведения о каждом из авторов: фами-

лия, имя, отчество (полностью на русском языке и в транслитерации), ученые звания и ученая степень, должность, место работы, рабочий телефон и адрес электронной почты (e-mail). Сведения необходимы для обработки публикаций в базе данных Российского индекса научного цитирования и других системах цитирования. Аннотация, ключевые слова, информация об авторах и название учреждений должны быть также предоставлены на английском языке.

5. Таблицы помещаются в текст статьи. Таблицы должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они упоминаются в тексте (например, табл. 1, табл. 2 и т. д.).

6. Рисунки вставляются в текст статьи, а также предоставляются в виде отдельных пронумерованных файлов формата .jpg или .gif с разрешением не менее 300 dpi. Рисунки должны быть контрастными и четкими, буквы, цифры и символы на них должны быть различимы. Рисунками считаются графики, рентгенограммы, фотографии или любые другие графические объекты. Фотографии людей не должны быть узнаваемыми, либо к ним должно быть приложено письменное разрешение на их публикацию. Рисунки должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они впервые упоминаются в тексте — рис. 1, рис. 2 и т. д. Подписи размещаются в тексте под рисунками. В подписях к микрофотографиям указывается степень увеличения и способ окраски.

7. В тексте статьи используются следующие заголовки: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, список литературы.

8. Используются только стандартные общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не применяются сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому использованию этого сокращения в тексте.

9. Обязательно наличие списка литературы. Библиографические ссылки в тексте статьи даются арабскими цифрами в квадратных скобках, в полном соответствии с нумерацией списка литературы. Ссылки в тексте статьи должны даваться последовательно по возрастанию: [1]...[2]...[3]... и т.д. Развернутое описание источника в списке литературы 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