

ISSN 2542-1174



JOURNAL

of SIBERIAN

MEDICAL

SCIENCES

Vol. 7
2023 **4**

**OPEN
ACCESS**

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 7, № 4 (2023)

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)

Локшин В.Н., д-р мед. наук, проф., академик НАН РК, президент Казахской 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)

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

УЧРЕДИТЕЛЬ

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

АДРЕС ИЗДАТЕЛЯ И РЕДАКЦИИ

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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)

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

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

Карбышева Н.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Коваленко А.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии, медицинской генетики и медицинской реабилитации, Кемеровский государственный медицинский университет (Кемерово)

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., зав. кафедрой неврологии, Волгоградский государственный медицинский университет (Волгоград)

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)

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

Смагина И.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

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. Тюринной, 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)

Хохлова З.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (Новокузнецк)

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

Белусов 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. 7, No. 4 (2023)

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 PERSONA (Kazakhstan, Almaty)

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

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

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

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

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

FOUNDER

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

EDITORIAL OFFICE AND PUBLISHER ADDRESS

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

EDITORIAL BOARD

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 the Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (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)

Karbysheva N.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Infectious Diseases with a Postgraduate Education Course, Altai State Medical University (Barnaul)

Kovalenko A.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology, Neurosurgery, Medical Genetics and Medical Rehabilitation, Kemerovo State Medical University (Kemerovo)

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)

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)

Senkevich O.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pediatrics, Neo-

natology and Perinatology with the Course of Emergency Medicine, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Smagina I.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology and Neurosurgery with a Postgraduate Education Course, Altai State Medical University (Barnaul)

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 the 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)

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

Khokhlova Z.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Infectious Diseases, Novokuznetsk State Institute for Advanced Medical Education – Branch of the Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Novokuznetsk)

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

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

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

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

3.3. MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES

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

Kazachkov E.L., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pathological

Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

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

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

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

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

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

3.4. PHARMACEUTICAL SCIENCES

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

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

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

Lavrenteva 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

- Кузнецов А.В., Сорокин О.В., Костина Л.Ю., Карпов М.А., Надеев А.П., Долгов В.В., Глазков А.А.** Морфологические особенности и микробиота тонкой кишки. 7
- Бибик И.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г., Бибик Е.Ю.** Исследование антиоцицептивных свойств новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина в тесте тепловой иммерсии хвоста 23
- Тихомирова Ю.И., Карабинцева Н.О., Метелева Е.С., Евсеенко В.И., Душкин А.В., Зеликман М.В.** Сравнительный анализ фармакотехнологических характеристик твердых дисперсий албендазола, полученных механохимическим твердофазным синтезом 35
- Борисова О.А., Джупарова И.А.** Изучение организационных проблем размещения аптечных организаций (на примере Новосибирской области) 50
- Визер А.А., Ивановская Е.А.** Изучение возможности количественного определения металлсодержащего лекарственного вещества в присутствии металлических примесей на примере фармацевтической субстанции висмута субсалицилат. 61
- Долганова О.М., Величко В.В., Карташова М.Е., Ершов К.И., Круглов Д.С.** Антикоагулянтная активность травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven). 68
- Казачков Е.Л., Чижевская А.В., Казачкова Э.А., Семенов Ю.А.** Клинико-анамнестические факторы риска антенатальной смерти доношенного плода 77
- Ананьев Д.А., Костюченко Г.И., Затеев А.В., Грибова Г.В., Лескова С.С., Субботин Е.А.** Математическая модель прогнозирования риска аспиринорезистентности и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ИБС после коронарного шунтирования 95
- Пилецкая У.В., Маринкин И.О., Макаров К.Ю., Соколова Т.М.** Подход к лечению бактериального вагиноза с применением комплекса бактериофагов 113
- Алифоренко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Кожуховский К.Е., Павловский В.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И.** Фармакокинетика антагониста брадикинина производного 1,4-бензодиазепин-2-она в эксперименте 124

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

- Давыдова З.В., Калинина Е.Ю., Аничков Н.М., Лазарев П.Э., Смирнов М.К., Лебеденко Е.А., Насъров Р.А.** Морфологические особенности повреждений, сформировавшихся от действия технического электричества в воде. 138

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

- Kuznetsov A.V., Sorokin O.V., Kostina L.Yu., Karpov M.A., Nadeev A.P., Dolgov V.V., Glazkov A.A.** Morphological features and microbiota of the small intestine 7
- Bibik I.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G., Bibik E.Yu.** Investigation of antinociceptive properties of new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine in the tail immersion test. . . 23
- Tikhomirova Yu.I., Karabintseva N.O., Meteleva E.S., Evseenko V.I., Dushkin A.V., Zelikman M.V.** A comparative analysis of pharmacotechnological characteristics of albendazole solid dispersions obtained by mechanochemical solid-phase synthesis 35
- Borisova O.A., Dzhuparova I.A.** Study of organizational challenges of pharmacy location (a case of the Novosibirsk region) 50
- Vizer A.A., Ivanovskaya E.A.** Studying the possibility of quantification of a metal-containing medicinal substance in the presence of metal impurities using bismuth subsalicylate as an example 61
- Dolganova O.M., Velichko V.V., Kartashova M.E., Ershov K.I., Kruglov D.S.** Anticoagulant activity of *Nonea rossica* Steven herb 68
- Kazachkov E.L., Chizhovskaya A.V., Kazachkova E.A., Semenov Yu.A.** Clinical and anamnestic risk factors for antenatal death of a full-term fetus 77
- Ananiev D.A., Kostyuchenko G.I., Zateev A.V., Gribova G.V., Leskova S.S., Subbotin E.A.** A mathematical model for predicting the risk of aspirin resistance and cardiovascular complications in patients with coronary artery disease after coronary bypass surgery. 95
- Piletskaya U.V., Marinkin I.O., Makarov K.Yu., Sokolova T.M.** An approach to the treatment of bacterial vaginosis using a bacteriophage cocktail 113
- Aliforenko A.E., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Kozhukhovskiy K.E., Pavlovskiy V.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I.** Pharmacokinetics of the bradykinin antagonist derivative 1,4-benzodiazepin-2-one in the experiment 124

CASE REPORT

- Davydova Z.V., Kalinina E.Yu., Anichkov N.M., Lazarev P.E., Smirnov M.K., Lebedenko E.A., Nasyrov R.A.** Morphological features of damage caused by technical electricity in water 138

Морфологические особенности и микробиота тонкой кишки

А.В. Кузнецов¹, О.В. Сорокин², Л.Ю. Костина¹, М.А. Карпов¹, А.П. Надеев¹, В.В. Долгов¹,
А.А. Глазков¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ООО «ВедаГенетика», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Несмотря на свою протяженность и функциональное разнообразие, тонкая кишка рассматривается при хирургических операциях как единый орган, без четкого деления на отделы. Проблема несостоятельности кишечных анастомозов до сих пор не решена и составляет от 3.4 до 15.3 % с летальностью до 18.6 %. Выявление анатомических особенностей разных отделов тонкой кишки и их содержимого имеет практическое значение в хирургической практике с позиции профилактики осложнений.

Ц е л ь . Выявление морфологических особенностей разных отделов тонкой кишки и микробиоты.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведено изучение 26 органокомплексов тонкой кишки на этапе аутопсии. На разном удалении от связки Трейтца изучены морфологические особенности тонкой кишки, состав внутрипросветной микробиоты, а также лейкоцитарная инфильтрация стенки кишки.

Р е з у л ь т а т ы . Морфологические характеристики тонкой кишки носят как индивидуальный (длина), так и общераспространенный (изменение венозной архитектоники и постепенное уменьшение диаметра кишки в каудальном направлении) характер. Количество и клеточный состав лейкоцитов в стенке тонкой кишки приблизительно одинаковы, что обеспечивает равную иммунологическую защиту вне зависимости от удаленности от связки Трейтца. Концентрация микробных популяций и их качественный состав меняются на разном протяжении тонкой кишки, с постепенным повышением к терминальному отделу. Изменения качественного и количественного состава микробиоты в просвете кишки не приводит к изменению лейкоцитарной реакции.

З а к л ю ч е н и е . При планировании и проведении хирургической операции необходимо учитывать наличие разного объема и видового состава бактериальной массы, а также морфологические особенности разных отделов тонкой кишки.

Ключевые слова: тонкая кишка, морфология, микробиота кишечника, хирургическая операция.

Образец цитирования: Кузнецов А.В., Сорокин О.В., Костина Л.Ю., Карпов М.А., Надеев А.П., Долгов В.В., Глазков А.А. Морфологические особенности и микробиота тонкой кишки // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):7-22. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-7-22

Morphological features and microbiota of the small intestine

A.V. Kuznetsov¹, O.V. Sorokin², L.Yu. Kostina¹, M.A. Karpov¹, A.P. Nadeev¹, V.V. Dolgov¹,
A.A. Glazkov¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²VedaGenetics LLC, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Despite its length and functional diversity, the small intestine is considered during surgical operations as a single organ, without a clear division into segments. The problem of intestinal anastomotic leakage has not yet

Поступила в редакцию 24.04.2023
Прошла рецензирование 16.05.2023
Принята к публикации 10.06.2023

Автор, ответственный за переписку
Кузнецов Алексей Владимирович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: 1x02788353@mail.ru

Received 24.04.2023
Revised 16.05.2023
Accepted 10.06.2023

Corresponding author
Alexey V. Kuznetsov: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: 1x02788353@mail.ru

been resolved, and its proportion is from 3.4 to 15.3%, with a mortality rate of up to 18.6%. Identification of the anatomical features of different segments of the small intestine and their contents is of practical importance in surgery in terms of prevention of complications.

A i m . Identification of morphological features of different segments of the small intestine and their microbiota.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . An examination of 26 samples of the small intestine during autopsy was performed. The morphological features of the small intestine, its intraluminal microbiota composition, as well as leukocyte infiltration of the intestinal wall were studied at different distances from the ligament of Treitz.

R e s u l t s . The morphological characteristics of the small intestine are both individual (length) and common (changes in venous architectonics and a gradual decrease in intestinal diameter in the caudal direction). The number and cellular composition of leukocytes in the wall of the small intestine are approximately the same, which provides equal immunological protection regardless of the distance from the ligament of Treitz. The concentration of microbial communities and their qualitative composition change at different lengths of the small intestine, with a gradual increase towards the terminal segment. Changes in the qualitative and quantitative composition of the microbiota in the intestinal lumen do not lead to changes in the leukocyte reaction.

C o n c l u s i o n . When planning and performing a surgical operation, it is necessary to take into account the presence of different volumes and species composition of the bacterial load, as well as the morphological characteristics of different segments of the small intestine.

Keywords: small intestine, morphology, intestinal microbiota, surgery.

Citation example: Kuznetsov A.V., Sorokin O.V., Kostina L.Yu., Karpov M.A., Nadeev A.P., Dolgov V.V., Glazkov A.A. Morphological features and microbiota of the small intestine. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):7-22. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-7-22

ВВЕДЕНИЕ

При проведении лечебных манипуляций и операций на тонкой кишке она обычно рассматривается как единый орган без учета анатомических особенностей разных отделов, а также микрофлоры и характера химуса [1]. Общеизвестное деление тонкой кишки на 12-перстную, тощую и подвздошную не дает четкого ответа, где заканчивается тощая и начинается подвздошная кишка. Описываются лишь наиболее характерные анатомические и морфологические признаки этих отделов. Большая протяженность тонкой кишки делает ее частым участником различных патологических процессов в брюшной полости. Проникающие ранения, ущемление грыж, завороты, заболевания и опухоли тонкой кишки в большинстве случаев требуют оперативного удаления части органа с его дальнейшим восстановлением. Несостоятельность кишечного шва до сих пор является грозным осложнением в абдоминальной хирургии, особенно в условиях перитонита [2, 3]. При формировании первичных тонко-тонкокишечных анастомозов их несостоятельность достигает 3.4 %, а при повторных – до 10.9–15.3 % с летальностью до 18.6 % [4, 5]. При наложении кишечного шва большую роль играют местные условия, наличие перитонита, измененный диаметр кишки и общее состояние пациента. Имеющиеся способы профилактики несостоятельности кишечного шва имеют разно-

INTRODUCTION

When carrying out medical procedures and surgeries on the small intestine, it is usually considered as a single organ without taking into account the anatomical features of different parts, as well as the microflora and nature of the chyme [1]. The well-known division of the small intestine into the duodenum, jejunum and ileum does not give a clear answer where the jejunum ends and the ileum begins. Only the most characteristic anatomical and morphological features of these segments are described. The large extent of the small intestine makes it a frequent participant in various pathological processes in the abdominal cavity. Penetrating wounds, hernia strangulation, volvulus, diseases and tumors of the small intestine in most cases require surgical removal of part of the organ with its further restoration. Intestinal suture failure is still a serious complication in abdominal surgery, especially in the presence of peritonitis [2, 3]. When primary ileoileal anastomoses are formed, their failure reaches 3.4%, and with reoperations – up to 10.9–15.3% with a mortality rate of up to 18.6% [4, 5]. When creating an intestinal anastomosis, the local conditions, presence of peritonitis, altered intestinal diameter and the patient's health status play an important role. The existing techniques for preventing an intestinal suture failure are multidirectional, but so far they have not been able to completely solve the problem [6–8].

направленный характер, но полностью проблему пока они решить не смогли [6–8].

Микробиота кишечника также играет важную роль как в функционировании здорового организма, так и в восстановлении пациента после операции [9–11]. В ряде случаев она может являться частью лечебных мероприятий [12]. Различия в микрофлоре тонкой и толстой кишки сомнений не вызывают [13, 14]. Изучение микрофлоры тонкой кишки затруднительно ввиду ее протяженности и проблематичности атравматичного взятия кишечного содержимого из разных отделов. В отличие от желудка, 12-перстной кишки и толстой кишки, использование эндоскопического способа при изучении тощей и подвздошной кишки очень ограничено. Исследователи, как правило, ограничиваются получением материала при фиброгастроскопии из проксимального (двенадцатиперстной кишки) и дистального (при фиброколоноскопии) отделов тонкой кишки. Дополнительной проблемой эндоскопического изучения тощей и подвздошной кишки является их свободная подвижность в брюшной полости в отличие от толстой и 12-перстной кишки, фиксированных в определенных местах. Это затрудняет процесс нанизывания кишки на аппарат и сбора стенки кишки в складки (сборивание), для обеспечения дальнейшего продвижения [15]. Таким образом, основная часть тонкой кишки остается малодоступной для прижизненного изучения морфологии и микрофлоры [16], в то время как морфологические особенности разных отделов тонкой кишки и их микробиота нуждаются в дальнейшем изучении и учете при планировании хирургической операции, а также в послеоперационном периоде.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление морфологических особенностей разных отделов тонкой кишки и их микробиоты у людей с различными антропометрическими данными разного пола и возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено изучение 26 органокомплексов тонкой кишки при патологоанатомическом вскрытии пациентов, умерших от причин, не связанных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), не получавших антибактериальную терапию, сорбенты или слабительные препараты. Временной промежуток исследования – до 12 ч после смерти. Макроскопически изучали общую протяженность тонкой кишки от связки Трейца до илеоцекального угла, ее диаметр,

The intestinal microbiota also plays an important role both in the functioning of a healthy body and in the patient's recovery after surgery [9–11]. In some cases, it may be a part of therapeutic measures [12]. The differences in the microflora of the small and large intestines are beyond doubt [13, 14]. Studying the microflora of the small intestine is difficult due to its extent and the difficulty of atraumatic sampling from different parts of the small intestine. Unlike the stomach, duodenum and ileum, the use of endoscopy in the study of the jejunum and ileum is very limited. The examiners, as a rule, limit themselves to obtaining samples from the proximal segment (duodenum) during the upper gastrointestinal endoscopy, and from distal segment of small intestine – during colonoscopy. An additional problem in endoscopic examination of the jejunum and ileum is their free mobility in the abdominal cavity, in contrast to the colon and duodenum, which are fixed in certain places. This complicates the process of stringing the intestine onto the tube and in folding of the intestinal wall for moving forward [15]. Thus, the main part of the small intestine remains inaccessible for intravital study of morphology and microflora [16], while the morphological features of different parts of the small intestine and their microbiota require further study and with planning a surgical operation, as well as in the postoperative period.

AIM OF THE RESEARCH

Identification of the morphological features of different parts of the small intestine and their microbiota in people with different anthropometric characteristics, various gender and age.

MATERIALS AND METHODS

We examined 26 samples of the small intestine during autopsy of patients who died from causes not associated with gastrointestinal diseases, who did not receive antibacterial drugs, sorbents or laxatives. The time range of the examination was up to 12 hours after death. The total length of the small intestine from the Treitz ligament to the ileocecal angle, its diameter, the number and diameter of the mesenteric vessels were examined macroscopically. When investigating the vasculature, veins were examined as an important part of the return of blood from the intestine to the hepatic portal system, and directly related to the morphology and function of the intestine. An additional factor was that veins did not collapse after cardiac arrest and that, unlike arteries, they were clearly visible. The duodenum was not included in the examination due to its significant differences from other parts of the small intestine: short

количество и диаметр выходящих из брыжейки сосудов. При изучении сосудистой сети исследовали вены, как важную часть возврата крови от кишки в портальную систему печени и напрямую связанную с морфологией и функцией кишки. Дополнительным фактором было их неспадение после остановки сердца и то, что, в отличие от артерий, они были хорошо видны. Двенадцатиперстная кишка не была задействована в исследовании по причине ее серьезных отличий от других отделов тонкой кишки: малой протяженности, особого кровоснабжения, отсутствия брыжейки, частично забрюшинного расположения, тесной связи с желчными протоками и поджелудочной железой, а также ее хорошей изученности вследствие эндоскопической доступности.

Для отсчета длины тонкой кишки была выбрана связка Трейтца, как постоянная и доступная анатомическая структура. Забор проб для микропрепаратов выполняли на расстоянии от связки Трейтца в 10, 100, 200, 300 и 400 см. В случае длины кишки свыше 400 см последнюю пробу брали в 10 см от илеоцекального угла.

Гистологические препараты готовили путем фиксации в 10% нейтральном формалине, проведения через серию спиртов возрастающей концентрации и заключения в парафин. На микротоме Microm HM355S (Thermo Scientific, США) изготавливали гистологические срезы толщиной 5–6 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое исследование полученных срезов проводили с использованием светового микроскопа AxioStar (Carl Zeiss, Германия) и закрытой тестовой системы из 25 точек площадью 1600 мкм² при увеличении в 400 раз в 90 полях зрения для каждого отдела тонкой кишки. Подсчитывали объёмные плотности сосудов (Vv), при помощи окуляр-микрометра измеряли и вычисляли средние диаметры сосудов стенки кишки (мкм).

Количественный и качественный состав микробиоты изучали с помощью тест-системы «КолоноФлор 8» (ООО «Альфалаб», Россия) на базе ООО «ВедаГенетика» (Новосибирск, Россия) путем ПЦР-анализа проб кишечного содержимого, полученного из соответствующих отделов тонкой кишки во время патологоанатомического вскрытия, хранившихся в герметичных контейнерах при температуре –20 °С до проведения исследования. Показатель общей бактериальной массы (ОБМ) определяли по общим, характерным для всех микроорганизмов бактериальным генам (липополисахариды, белки мембраны, участки ДНК) или их сочетаниям.

length, special blood supply, absence of mesentery, partially retroperitoneal location, close connection with the bile ducts and pancreas, as well as the high level of knowledge due to its accessibility for endoscopy.

To measure the length of the small intestine, the Treitz ligament was chosen as a permanent and accessible anatomical structure. Samples for slides were taken at a distance of 10, 100, 200, 300 and 400 cm from the ligament of Treitz. If intestinal length was over 400 cm, the last sample was taken at 10 cm from the ileocecal angle.

Tissue specimens were prepared by fixation in 10% neutral formalin, passing through alcohol baths of increasing concentration and embedding in paraffin. Histological sections 5–6 μm thick were made using a Microm HM355S microtome (Thermo Scientific, USA) and stained with hematoxylin and eosin. Histological examination of the sections obtained was carried out using an AxioStar microscope (Carl Zeiss, Germany) and a closed test system of 25 points with an area of 1600 μm² at 400 magnification in 90 fields of view for each segment of the small intestine. The volumetric density of the vessels (Vv) was calculated, and the median diameters of the intestinal wall vessels (μm) were measured and calculated using an eyepiece micrometer.

The quantitative and qualitative composition of the microbiota was assessed using a Colonoflor 8 kit (Alphalab LLC, Russia) on the basis of VedaGenetics LLC (Novosibirsk, Russia) by PCR of samples of intestinal content from the corresponding segments of the small intestine during autopsy, which stored in sealed containers at a temperature of –20 °C. The total bacterial load (TBL) was determined by common bacterial genes, characteristic of all microorganisms (lipopolysaccharides, membrane proteins, DNA sites), or their combinations.

For statistical processing of the results obtained, Statistica 10.0 software (StatSoft Inc., USA) was used. The probability of significant differences between the compared average values ($M \pm m$) was determined using the Student's *t*-test under the condition of the normal distribution of values in the variation series and the Mann-Whitney *U*-test. Differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

It was not possible to identify a direct relationship between the length and diameter of the small intestine based on gender and weight-height indicators. For example: at the same age, a man with a height of 185 cm and a weight of 120 kg had a small

Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Вероятность достоверности различий между сравниваемыми средними величинами ($M \pm m$) определяли с помощью t -критерия Стьюдента при условии нормального распределения величин в вариационном ряду и U -критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически достоверными при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прямой зависимости между длиной и диаметром кишки по половому и весоростовому показателю выявить не удалось. Для примера: при равном возрасте у мужчины ростом 185 см и весом 120 кг длина кишки составила 455 см, а у мужчины ростом 178 см и весом 60 кг – 530 см. Длина кишки всегда имела индивидуальный характер. Во всех изученных случаях диаметр однообразно менялся по ходу всей длины кишки: в проксимальных отделах тонкая кишка имела наибольший диаметр, к дистальному отделу он заметно уменьшался (рис. 1).

Так, значимое уменьшение диаметра тонкой кишки на 18.4–29.3 % происходило на уровне 200 см в сравнении с уровнем 10 см от связки Трейтца, и диаметр продолжал уменьшаться, что объясняется постепенным всасыванием жидкой части химуса и уменьшением его объема. Диаметр тонкой кишки может иметь важное значение для понимания прогноза развития уровня обтурационной кишечной непроходимости при

intestine length of 455 cm, and a man with a height of 178 cm and a weight of 60 kg had a small intestine length of 530 cm. The length of the small intestine always was individual. In all the studied cases, the diameter changed monotonically along the entire length of the small intestine: in the proximal segments the small intestine had the largest diameter; towards the distal segment it noticeably decreased (Fig. 1).

Thus, a significant decrease in the small intestine diameter by 18.4–29.3% was at the level of 200 cm compared to the point of 10 cm from the Treitz ligament, and the diameter continued to decrease which is explained by the gradual absorption of the liquid phase of the chyme and a decrease in its volume. The diameter of the small intestine may be important for understanding the prognosis of the development, the grade of obturation ileus when a foreign body, a bezoar passes through the intestinal lumen, as well as determining the width of an intestinal anastomosis, which should be comparable to the diameter of the intestine at the site of its creating.

The venous vasculature at the border of mesentery and intestine along the entire length of the intestine changed in a strictly defined sequence (Fig. 2, 3). In the proximal segments of the small intestine, there were fewer vessels, the distance between them was greater, and they were larger in diameter. In the distal segments of the small intestine, the veins were more frequent and located closer to each other, while their caliber decreased. The identified direct relationship between the number of vessels along the entire length of the

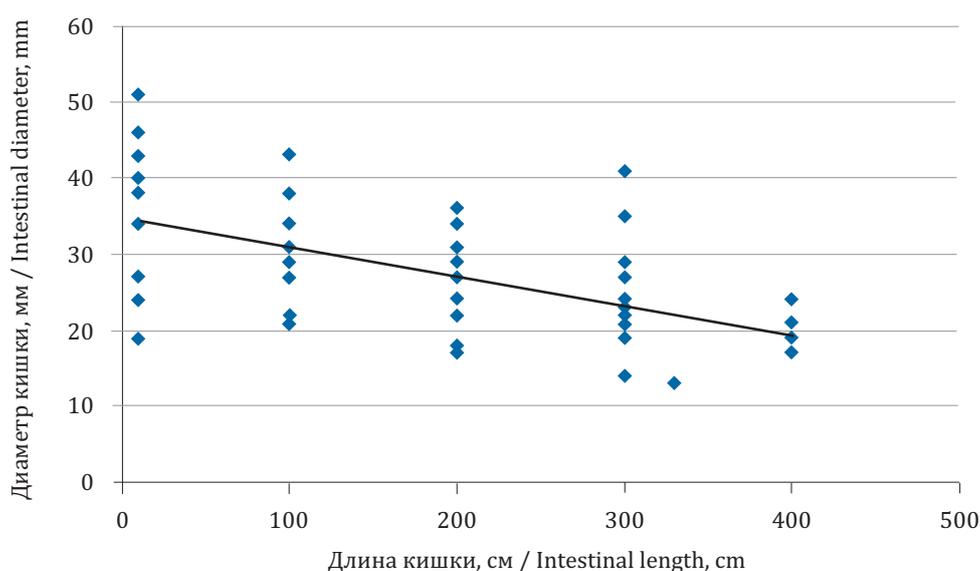


Рис. 1. Диаметр тонкой кишки на разном удалении от связки Трейтца (см) ($p = 0.000345$)
Fig. 1. Diameter of the small intestine at different distances from the ligament of Treitz (cm) ($p = 0.000345$)

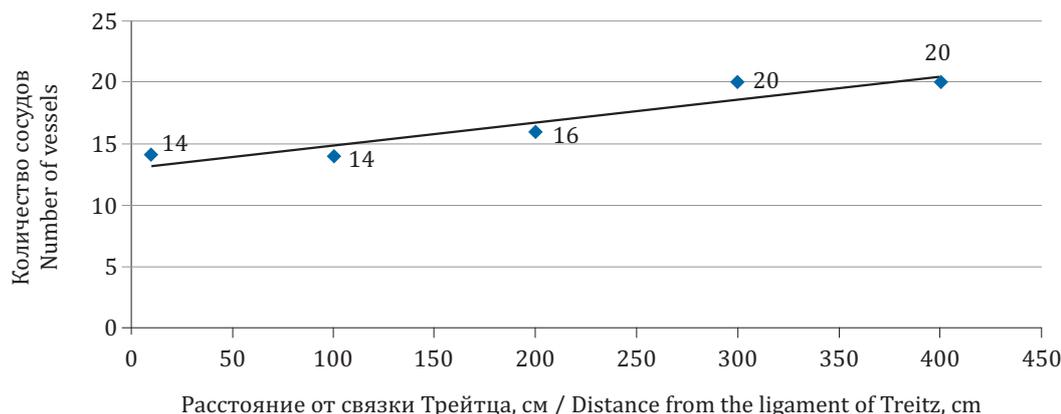


Рис. 2. Средние значения количества сосудов на 10 см брыжеечного края на разном расстоянии от связки Трейтца ($p = 0.0395$)

Fig. 2. Average values of the number of vessels per 10 cm of the mesenteric margin at different distances from the ligament of Treitz ($p = 0.0395$)

прохождении в просвете кишки инородного тела, безоара, а также определения ширины кишечного анастомоза, который должен быть сопоставим с диаметром кишки в месте его наложения.

Венозная сеть в области брыжеечно-кишечного перехода по всей длине кишки изменялась в строго определенной последовательности (рис. 2, 3). В проксимальных отделах тонкой кишки сосудов было меньше, расстояние между ними больше, а в диаметре они крупнее. В дистальных отделах тонкой кишки вены располагались чаще и ближе друг к другу, при этом их калибр уменьшался. Выявленная прямая связь между количеством сосудов на протяжении всей

intestine and the distance between these vessels was observed for all samples studied. For the purposes of objectivity, the ratio of the number of vessels not only to the length, but also to the diameter of the intestine was studied. The direct relationship between the diameter of the intestine and the number of vessels, the distance between them and the diameter of the vessels was also confirmed: the larger the diameter of the intestine, the fewer the number of vessels, but of a larger caliber, the intestine contains in an examined area. We associate massive vessel branching into small veins in the medial and distal segments with the active process membrane digestion and absorption, which

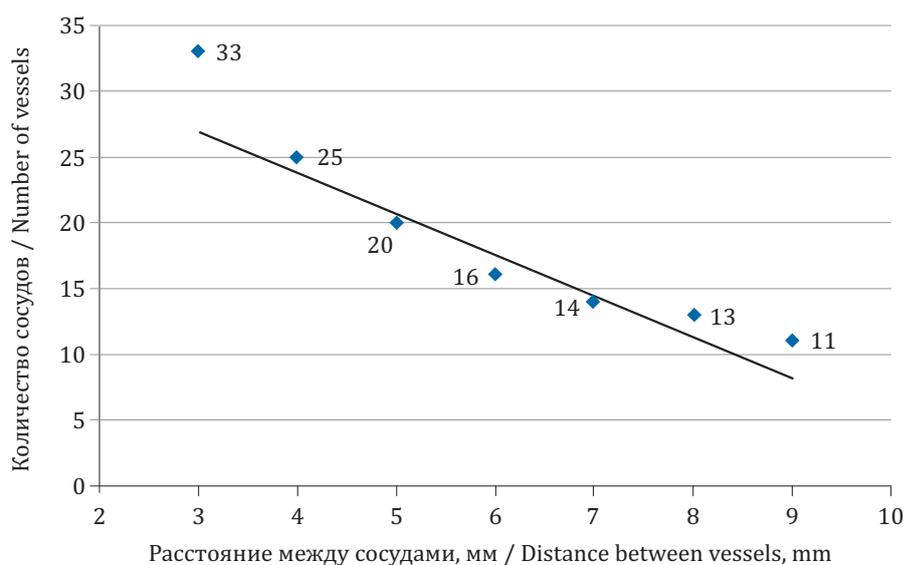


Рис. 3. Средние значения количества сосудов на 10 см брыжеечного края в зависимости от расстояния между сосудами ($p = 0.001$)

Fig. 3. Average values of the number of vessels per 10 cm of the mesenteric margin depending on the distance between the vessels ($p = 0.001$)

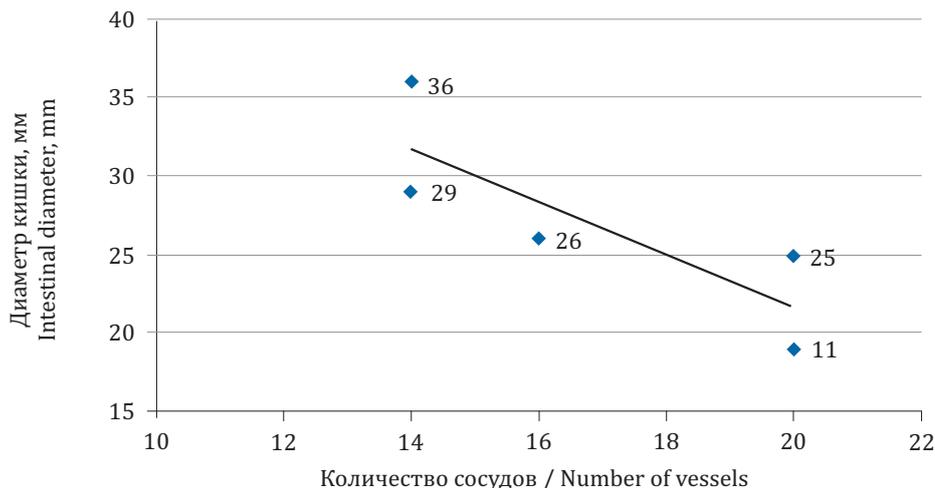


Рис. 4. Среднее отношение диаметра кишки к количеству сосудов в 10 см брыжеечно-кишечного перехода ($p = 0.1283$)
Fig. 4. Average ratio of the intestinal diameter of the small intestine to the number of vessels at 10 cm at the border of mesentery and intestine ($p = 0.1283$)

длины кишки и расстоянием между этими сосудами прослеживалась на всех изученных органо-комплексах. Для объективности было изучено соотношение количества сосудов не только к длине, но и к диаметру кишки. Прямая связь между диаметром кишки и количеством сосудов, расстоянием между ними и диаметром сосудов также подтвердилась: чем больше диаметр кишки, тем меньшее количество сосудов, но более крупного калибра содержит кишка на данном участке. Массивное ветвление на мелкие вены в средних и дистальных отделах связываем с активным процессом пристеночного пищеварения и всасывания, требующих хорошего проксимального портального кровотока (рис. 4, 5).

require good portal blood flow in the proximal parts (Fig. 4, 5).

One of the objectives of the study was to identify differences in the density of the cellular infiltrate (leukocytes) and its qualitative composition (plasma cells lymphocytes, eosinophils and neutrophils) in the intestinal wall, and to assess the luminal microflora at different distances from the ligament of Treitz. Cellular infiltration was not unambiguous in all samples and differed in specific peculiarities which, in general, meet the whole picture of the trend of the average indicator (Fig. 6).

In the proximal segments of the intestine, close to the area of the ligament of Treitz, the number of leukocytes in the wall was maximal. By the middle

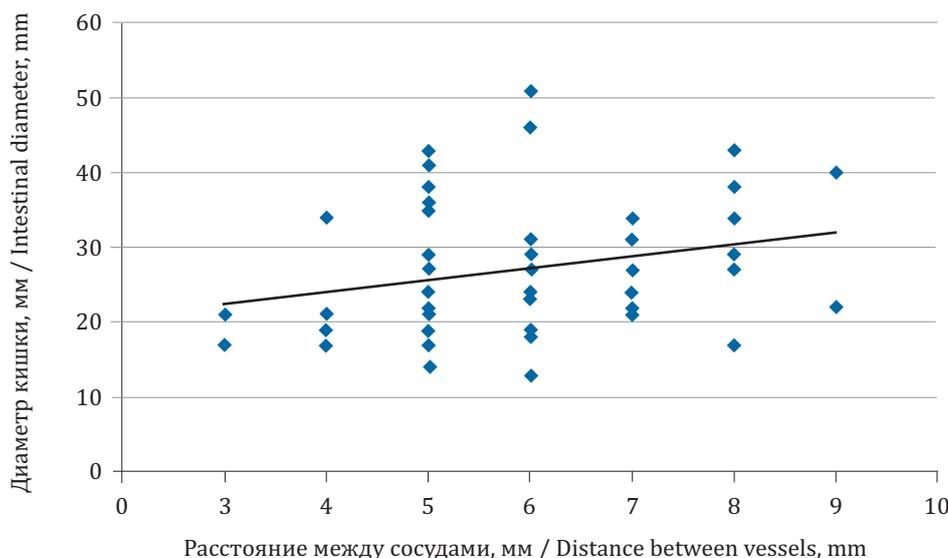


Рис. 5. Совокупность статистических данных по отношению диаметра кишки к расстоянию между сосудами ($p = 0.058818$)
Fig. 5. Statistical data on the ratio of the intestinal diameter to the distance between vessels ($p = 0.058818$)

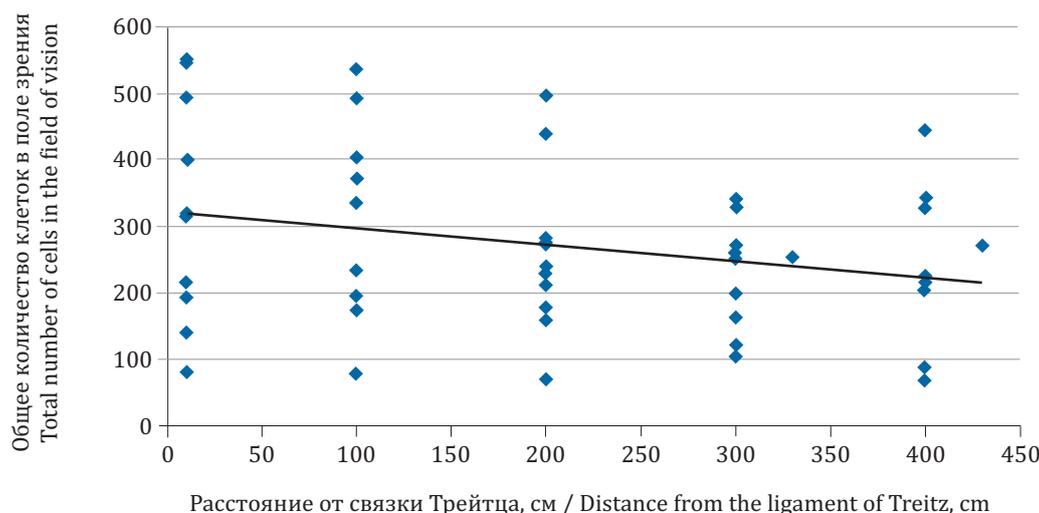


Рис. 6. Общее количество лейкоцитов в стенке кишки на разном удалении от связки Трейтца ($p = 0.38671$)
Fig. 6. The total number of leukocytes in the intestinal wall at different distances from the ligament of Treitz ($p = 0.38671$)

Одной из задач исследования было выявление различий плотности клеточного инфильтрата (лейкоцитов) и его качественного состава (плазмоциты, лимфоциты, эозинофилы и нейтрофилы) в стенке кишки и оценка микрофлоры в просвете на разном удалении от связки Трейтца. Клеточная инфильтрация не была однозначной во всех пробах и отличалась индивидуальными особенностями, которые в целом не нарушали общей картины тренда среднего показателя (рис. 6).

В проксимальных отделах кишки, приближенных к зоне связки Трейтца, количество лейкоцитов в стенке было максимальным. К середине длины тонкой кишки, на уровне 200 см это количество снижалось на 20.6 %, на уровне 300 см уменьшалось на 29.8 % и было минимальным. В терминальном отделе, на 400 см, количество клеток несколько возрастало, но все равно по сравнению с начальным отделом тонкой кишки было ниже на 24.9 %. Вероятно, это связано с разным характером содержимого тонкой кишки в проксимальном и дистальном отделах. В проксимальном отделе имеется крупнофрагментированная, слабо перемешанная с ферментами и желчью пища, содержащая микрофлору, пришедшую с ней из внешней среды. Постепенно характеристики химуса меняются, он становится жидким, подвергается внутрипросветному и пристеночному пищеварению, внешняя микрофлора подавляется персистирующей микрофлорой кишки. Логично предполагать, что необходимость клеточного иммунитета будет выше именно в проксимальных отделах. Небольшой подъем количества

of the small intestine length, at the level of 200 cm, this amount decreased by 20.6%, at point 300 cm, it decreased by 29.8% and was minimal. In the terminal part at the level of 400 cm, the number of cells increased slightly, but still, compared to the proximal small intestine, it was lower by 24.9%. Probably, this is due to the different nature of the small intestine content in the proximal and distal segments. In the proximal part, there is coarsely fragmented food, poorly mixed with enzymes and bile, containing microflora that came with food from the external environment. Gradually, the characteristics of the chyme change, it becomes liquid, undergoes intraluminal and membrane digestion, the external microflora is suppressed by the intestinal one. It is logical to assume that the need for cellular immunity will be higher in the proximal segments. A slight increase in the number of leukocytes in the terminal small intestine is associated with the proximity of the Bauhin's valve and periodic reflux of intestinal content.

The cellular composition of leukocytes in different segments of the small intestine is presented in Table 1.

In all parts of the small intestine, 88.1–91.8% of all cells were lymphocytes and the number of B lymphocytes (plasma cells) was on average 40.8% greater, which indicates the most important role in the non-inflamed intestine of humoral immunity that is provided by plasma cells. The number of neutrophils which destroy foreign microorganisms mainly by phagocytosis is somewhat greater in the proximal segments of the intestine, which is explained by the penetration of the external microflora with food. Subsequently, as the microflora is

Таблица 1. Клеточный состав лейкоцитов в разных отделах тонкой кишки, %
Table 1. Cellular composition of leukocytes in different segments of the small intestine, %

Отдел кишечника, расстояние от связки Трейтца Segment of the intestine, distance from the ligament of Treitz	Лимфоциты, % Lymphocytes, %	Плазмоциты, % Plasma cells, %	Лимфоциты + плазмоциты, % Lymphocytes + plasma cells, %	Эозинофилы, % Eosinophils, %	Нейтрофилы, % Neutrophils, %
10 см / cm	33.5 ± 1.61	56.6 ± 1.67	90.1	0.6 ± 0.22	9.2 ± 0.88
100 см / cm	36.0 ± 1.81	54.6 ± 1.93	90.6	0.5 ± 0.28	8.9 ± 1.17
200 см / cm	37.2 ± 1.69	50.9 ± 1.63	88.1	0.8 ± 0.25	11.1 ± 1.14
300 см / cm	32.3 ± 1.51	58.4 ± 1.56	90.7	2.1 ± 0.50	7.1 ± 0.76
400 см / cm	40.9 ± 1.61	50.9 ± 1.68	91.8	1.0 ± 0.38	7.2 ± 0.79

лейкоцитов в терминальном отделе тонкой кишки связываем с близостью баугиниевой заслонки и периодическим рефлюксом толстокишечного содержимого.

Клеточный состав лейкоцитов в разных отделах тонкой кишки представлен в табл. 1.

Во всех отделах тонкой кишки 88.1–91.8 % всех клеток составляли лимфоциты, причем количество В-лимфоцитов (плазмоцитов) было в среднем на 40.8 % больше, что говорит о важнейшей роли в невоспаленной кишке именно гуморального иммунитета, который и обеспечивается плазмоцитами. Количество нейтрофилов, уничтожающих чужеродные микроорганизмы преимущественно путем фагоцитоза, в начальных отделах кишки несколько больше, что объясняется проникновением внешней микрофлоры с пищей. В дальнейшем, по мере элиминации попавшей микрофлоры количество нейтрофилов сокращается на 21.7 %. В средней зоне кишки, на уровне 200 см, отмечали кратковременное изменение клеточного состава: снижение плазмоцитов на 10.1 % и увеличение нейтрофилов на 20.6 %. Это связываем со значимым сокращением диаметра кишки именно в этой зоне при активном процессе пристеночного пищеварения, что ведет к замедлению прохождения химуса и увеличению времени его контакта с кишечной стенкой. Рост эозинофильной инфильтрации в конечных отделах кишки на 66.6–250 %, очевидно, связан с сенсibilизацией неперева-ренными продуктами, оставшимися в кишке после всасывания. В дальнейшем эти продукты покинут кишку и будут готовиться к утилизации в каловых массах. Нельзя полностью исключить и влияние рефлюкса толстокишечной микрофлоры в терминальных отделах, вызывающих

eliminated, the number of neutrophils decreases by 21.7%. In the medial intestine, at the level of 200 cm, a short-term change in cellular composition was noted: a decrease in plasma cells by 10.1% and an increase in neutrophils by 20.6%. We associate this with a significant reduction in the diameter of the intestine in this particular segment during the active process of membrane digestion, which leads to a slowdown in the chyme passage and an increase in the time of its contact with the intestinal wall. An increase in eosinophilic infiltration in the terminal part of the intestine by 66.6–250% is apparently associated with sensitization by undigested content remaining in the intestine after absorption. Subsequently, this content will be eliminated from the intestine after being prepared for fecal excretion. The influence of reflux of colonic microflora in the terminal segments, which causes a cellular eosinophilic reaction of the intestinal wall, cannot be completely excluded.

The microflora of the intestinal lumen in its different segments (TBL) showed a wide range of values with tendencies towards both rapid growth and decline (Fig. 7).

The first increase of TBL was noted at the entrance to small intestine, which is due to the penetration of a large amount of exogenous microflora from the stomach and duodenum, obtained from food. The initial amount of microflora progressively decreases from the proximal to the medial segments of the intestine. The lowest value of the indicator was registered at 100 cm from the ligament of Treitz, after which the indicator recovered, and in the terminal segments of the organ, the TBL value exceeded the baseline level. We explain this plot by the maximal implementation of the bactericidal effect of bile and pancreatic juice precisely in the medial segments

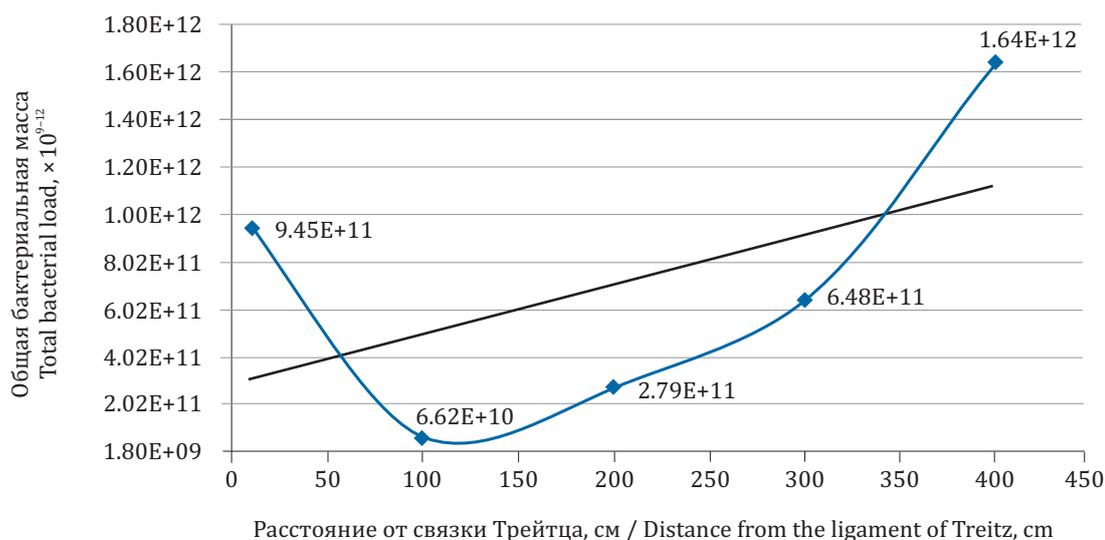


Рис. 7. Среднее значение общей бактериальной массы (КОЕ на 1 г кишечного содержимого) в просвете кишки на разном отдалении от связки Трейтца ($p = 0.402653$)

Fig. 7. The average value of the total bacterial load (CFU per gram of intestinal content), in the intestinal lumen at different distances from the Treitz ligament ($p = 0.402653$)

клеточную эозинофильную реакцию стенки кишки.

Микрофлора просвета тонкой кишки в ее разных отделах (ОБМ) показала слишком разные значения: имеются тенденции как к бурному росту, так и падению (рис. 7).

Первый подъем ОБМ был отмечен на входе в тонкую кишку, что обусловлено проникновением из желудка и 12-перстной кишки большого количества экзогенной микрофлоры, поступающей с пищей. Исходное количество микрофлоры прогрессивно снижается от проксимальных к средним отделам кишки. Максимальный провал показателя регистрировали на 100 см от связки Трейтца, после чего показатель восстанавливается и в терминальных отделах ОБМ превышает исходный уровень. Такой график объясняем максимальной реализацией бактерицидного действия желчи и панкреатического сока именно в средних отделах, где их концентрация еще высока, диаметр кишки уменьшается и время контакта с микрофлорой увеличивается. При дальнейшем движении химуса бактерицидный эффект снижается и внутрипросветная флора восстанавливается с ее максимальным пиком перед входом в толстую кишку.

В исследовании прослежена связь между общей бактериальной массой в просвете кишки и общим количеством клеток (лейкоцитов) в стенке кишки (рис. 8).

Логично предполагать, что должны быть элементы прямой зависимости между увеличением

where their concentration is still high, the intestinal diameter decreases, and the time of contact with microflora increases. During further movement of the chyme, the bactericidal effect decreases, and the intraluminal flora is restored with its maximal peak before entering the colon.

The study revealed the relationship between the total bacterial load in the intestinal lumen and the total number of cells (leukocytes) in the intestinal wall (Fig. 8).

It is logical to assume that there should be elements of a direct relationship between an increase in TBL in the intestinal lumen and the total number of leukocytes in the intestinal wall as a reaction of the macroorganism to microbial agents and vice versa: a decrease in both TBL and the total number of leukocytes. However, for the data obtained, such correlation and direct relationship were not found. This suggests that the segment of small intestine, its diameter, vascularization, nature of the chyme, etc. are of paramount importance. It is possible that the saprophytic microflora that predominates in any segment of the intestine is affected by leukocyte infiltration less, than the predominating pathogenic microflora. There also may be other factors influencing changes in this ratio.

The content of bifidobacteria throughout the intestine shows slight fluctuations with a gradual increase towards the terminal segment (Fig. 9). A similar picture was observed for the dynamics of lactobacilli, which shows the relative constancy of the saprophytic flora in the non-inflamed intes-

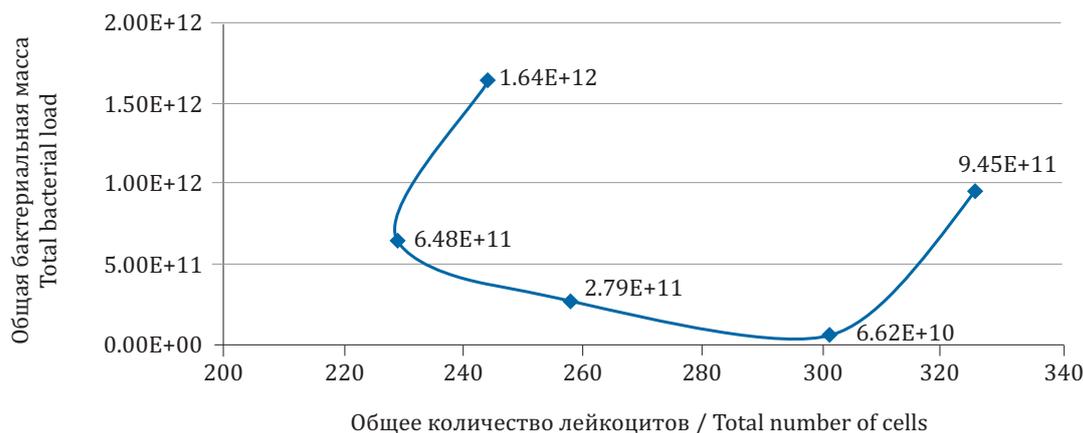


Рис. 8. Изменение среднего значения общего количества лейкоцитов в стенке кишки в зависимости от показателя среднего значения общей бактериальной массы в просвете кишки (КОЕ на 1 г кишечного содержимого) ($p = 0.716451$)

Fig. 8. Change in the average value of the total number of leukocytes in the intestinal wall depending on the average value of the total bacterial load in the intestinal lumen (CFU per gram of intestinal content) ($p = 0.716451$)

ОБМ в просвете кишки и общего количества лейкоцитов в стенке кишки как реакция на микробные агенты – и наоборот: снижения как ОБМ, так и общего количества лейкоцитов. Однако в полученных данных такой корреляции не получено и прямой зависимости нет. Это говорит о том, что первостепенное значение имеет отдел кишки, его диаметр, васкуляризация, характер химуса и т.д. Не исключено, что на сапрофитную микрофлору, преобладающую в каком-либо сегменте кишки, лейкоцитарная инфильтрация в кишке воздействует меньше, чем на преобладание патогенной микрофлоры. Возможно, имеются и другие факторы, влияющие на изменение этого соотношения.

Содержание бифидобактерий на всем протяжении кишки показывает незначительные колебания с постепенным увеличением к терминальному отделу (рис. 9). Схожую картину наблюдали для динамики лактобактерий, что показывает относительное постоянство сапрофитной флоры при невоспаленной кишке. В проксимальном отделе, на входе в кишку наблюдается несколько большее количество лактобактерий, что объяснимо их функцией «привратника», играющей важную роль в обеспечении местного кишечного иммунитета. На уровне 100 см от связки Трейтца практически для всех бактериальных агентов показано снижение показателя. Исключение составил показатель *Candida* как представитель грибов. Данный факт можно объяснить губительным действием на бактерии щелочной среды и протеолитических ферментов в этом отделе кишки. Микрофлора обитает и функционирует в меняющейся жидкой среде

тине. In the proximal part, at the entrance into the intestine, a slightly larger numbers of lactobacilli are observed, which can be explained by their gatekeeper which plays an important role in ensuring local intestinal immunity. At the level of 100 cm from the ligament of Treitz, a decrease in the indicator is revealed for virtually all bacterial agents. The exception was *Candida* as a representative of fungi. This fact can be explained by the destructive effect on bacteria of the alkaline environment and proteolytic enzymes in this part of the intestine. Microflora lives and operates in the changing liquid environment of the digestive tract; it ensures luminal symbiotic digestion in the intestine under the influence of bile acids and pancreatic hydrolases. The composition of the luminal microflora depends on the substances present, pH and other factors that determine the qualitative and quantitative composition of adapted to them luminal microbial communities. The luminal microbiotope is subject to fluctuations in the composition and concentration of microbial communities. As the distal segments of the small intestine are approached, the total number of bacteria increases and additional species appear. The concentration of microbial communities and *Escherichia* spp., as the chyme moves, shows their steady increase in distal direction. The examination of microflora in our study showed a picture similar to the intravital assessment of microflora by other authors [17], which indicates the possibility and reasonability of studying fresh postmortem samples of the small intestine.

Our research showed that there were morphological differences between various segments of the

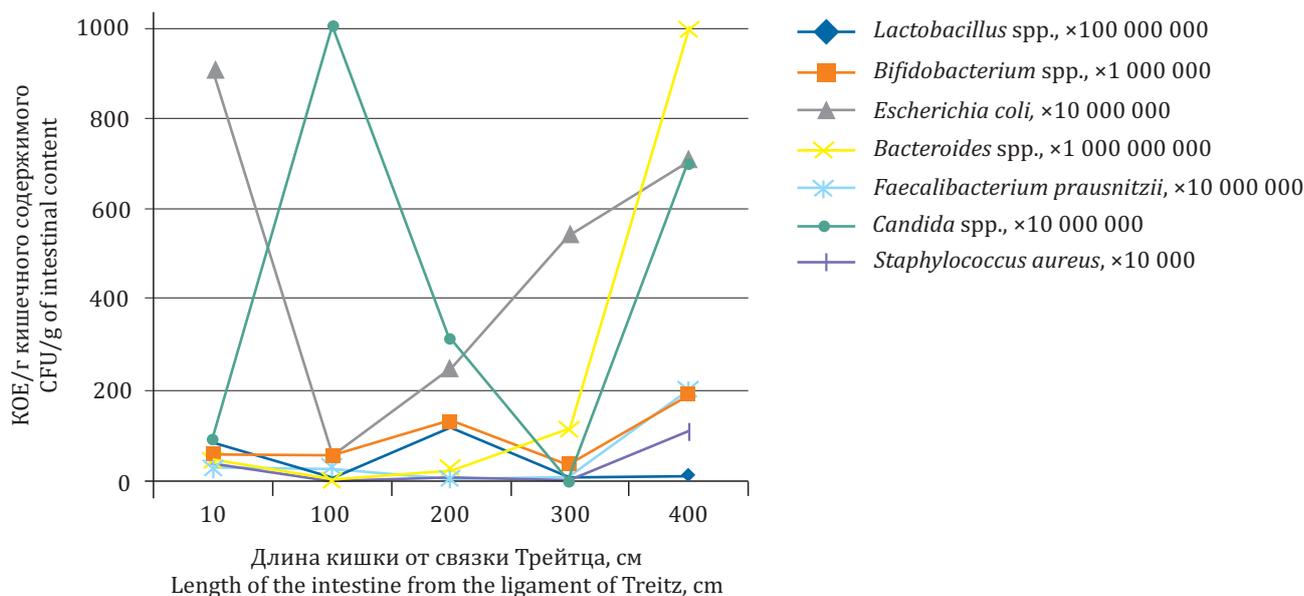


Рис. 9. Среднее значение штаммов бактерий в кишке на разном удалении от связки Трейтца
Fig. 9. The average value of bacterial strains in the small intestine at a different distance from the ligament of Treitz

пищеварительного тракта, она обеспечивает полостное симбионтное пищеварение в просвете кишки под действием желчных кислот и панкреатических гидролаз. Состав полостной микрофлоры зависит от состава веществ, pH и других параметров, определяющих качественный и количественный состав адаптированных к ним полостных микробных популяций. Полостной микробиотоп подвержен колебаниям по составу и концентрации микробных популяций. По мере приближения к дистальным отделам тонкой кишки общее количество бактерий возрастает, появляются дополнительные виды. Концентрации микробных популяций и эшерихий по мере продвижения химуса показывают их стабильное повышение в дистальном направлении. Изучение микрофлоры в нашем исследовании показало схожую картину с прижизненным изучением микрофлоры другими авторами [17], что говорит о возможности и целесообразности изучения свежего постмортального материала кишки.

Проведенное исследование показало, что имеются морфологические отличия разных отделов тонкой кишки, а также в количественном и качественном составе содержащейся в них микрофлоры. Длина тонкой кишки всегда имела индивидуальный характер и не зависела от возраста, пола и роста-весовых показателей пациента. Диаметр тонкой кишки прогрессивно уменьшается от проксимальных отделов у связки Трейтца к дистальным в среднем на 48.1%. Венозная сосу-

small intestine, as well as in the quantitative and qualitative microbial composition. The length of the small intestine always had an individual character and did not depend on the age, gender, height and weight of the patient. The small intestine diameter progressively decreases from the proximal segments at the ligament of Treitz to the distal part by an average of 48.1%. The venous vasculature network of the proximal intestine has a smaller number of vessels and a greater distance between them at the border of mesentery and intestine. Towards the distal segments of the small intestine, the vascular architecture changes, the veins become smaller, their number increases and a distance between them is decreasing.

The number of lymphocytes that support the state of local intestinal immunity does not differ significantly in all segments of the intestine. Accordingly, the risks related with surgical manipulations on different segments of the intestine, from the point of view of the immune defense of the intestinal wall are approximately the same. A stable indicator of lymphocytic infiltration of the intestinal wall and the distribution of saprophytic microflora provide equal protection in all its parts.

Significant changes in the leukocyte response of the intestinal wall depending on changes in intraluminal TBL have not been established. The key influence, probably, have the morphological characteristics of the intestinal segment: distance from the ligament of Treitz, diameter, vascularization and other factors. An increase or decrease in

дистая сеть проксимальных отделов кишки имеет меньшее количество сосудов, большее расстояние между ними в брыжеечно-кишечном переходе. К дистальным отделам тонкой кишки архитектура сосудов меняется, вены становятся более мелкими, их число возрастает, и расстояние между ними сокращается.

Количество лимфоцитов, обеспечивающих работу местных иммунных процессов в кишке, не имеет значимых отличий во всех отделах кишки. Соответственно риски при проведении хирургических манипуляций на разных отделах кишки, с позиции иммунной защиты стенки кишки, примерно одинаковы. Устойчивый показатель лимфоцитарной инфильтрации стенки кишки и распределение сапрофитной микрофлоры обеспечивают равную защиту во всех ее отделах.

Значимых перемен лейкоцитарной реакции стенки кишки на изменение внутрипросветной ОБМ не установлено. Ключевое влияние, очевидно, оказывают морфологические характеристики отдела кишки: отдаленность от связки Трейтца, диаметр, васкуляризация и другие факторы. Увеличение или уменьшение ОБМ в разных отделах тонкой кишки не приводит к увеличению лейкоцитарной ответа в стенке кишки, так как уравнивается гуморальными факторами защиты (желчь, панкреатический сок и т.д.) и нормальной работой кишки с изменением качеств химуса. При нарушении работы печени, поджелудочной железы и тонкой кишки такой баланс может быть нарушен, что приведет к возникновению различной кишечной патологии.

Отмечена тенденция снижения ОБМ и концентрации микробных популяций (бактероиды, бифидобактерии, лактобактерии, эшерихии) в начальной зоне на уровне 100 см от связки Трейтца и постепенное ее повышение в средней и дистальной зоне тонкой кишки, начиная с уровня 200 см. Количество микрофлоры к терминальным отделам нарастает и превышает исходный уровень. Концентрации микробных популяций бифидобактерий и эшерихий показывают стабильное повышение в дистальном направлении. С позиции объема микробной массы тонкой кишки риски обсеменения при вскрытии кишки в начальном и дистальном отделах выше, чем в средних отделах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

TBL in different parts of the small intestine does not lead to an increase in the leukocyte response in the intestinal wall, as it is balanced by humoral protective factors (bile, pancreatic juice, etc.) and normal intestinal function with changes in the quality of the chyme. In case of liver, pancreas and small intestine disorders, this balance can be disturbed which will lead to various intestinal diseases.

There was a tendency to a decrease in TBL and the concentration of microbial communities (*Bacteroides* spp., bifidobacteria, lactobacilli, *Escherichia* spp.) in the proximal segment at the level of 100 cm from the ligament of Treitz and its gradual increase in the medial and distal segments of the small intestine, starting at the point of 200 cm. Towards the terminal segments, the amount of microflora increases and exceeds the baseline level. Concentration of *Bifidobacterium* spp. and *Escherichia* spp. shows a stable increase in the distal direction. In terms of the volume of microbial load of the small intestine, the risks of contamination during enterotomy in the proximal and distal parts are higher than in the medial segments.

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. The morphological characteristics of the small intestine are both individual (length) and common (changes in venous architecture and a gradual decrease in intestinal diameter in the caudal direction).

2. The number and cellular composition of leukocytes in the wall of the small intestine are approximately the same, which provides equal immune protection regardless of a distance from the Treitz ligament.

3. The concentration of bacterial communities and their qualitative composition change at different lengths of the small intestine, with a gradual increase towards the terminal part. Changes in the qualitative and quantitative composition of the microbiota in the intestinal lumen do not lead to changes in the leukocyte reaction.

Thus, when performing a surgery, it is necessary to take into account the different volumes and composition of the bacterial load as well as the morphological characteristics of different segments of the small intestine.

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

1. Морфологические характеристики тонкой кишки носят как индивидуальный (длина), так и общераспространенный (изменение венозной архитектоники и постепенное уменьшение диаметра кишки в каудальном направлении) характер.

2. Количество и клеточный состав лейкоцитов в стенке тонкой кишки приблизительно одинаковы, что обеспечивает равную иммунологическую защиту вне зависимости от удаленности от связки Трейтца.

3. Концентрация микробных популяций и их качественный состав меняются на разном протя-

жении тонкой кишки, с постепенным повышением к терминальному отделу. Изменения качественного и количественного состава микробиоты в просвете кишки не приводит к изменению лейкоцитарной реакции.

Таким образом, при проведении хирургической операции необходимо учитывать наличие разного объема и состава бактериальной массы, а также морфологические особенности разных отделов тонкой кишки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Миннуллин М.М., Красильников Д.М., Зайнуллин И.В. и др. Хирургическая тактика при изолированных повреждениях тонкой и толстой кишки // Практическая медицина. 2016;5(97):83-87.
2. Вайнер Ю.С., Атаманов К.В., Верятин Я.А. Регуляция воспалительного ответа в тонкокишечном анастомозе // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2017;3(62):27-32. DOI: 10.17223/1814147/62/04.
3. Ермолов А.С., Воленко А.В., Горский В.А. и др. Радикальное устранение источника перитонита – кардинальная проблема хирургического лечения перитонита // Анналы хирургии. 2016;21(3):211-214. DOI: 10.18821/1560-9502-2016-21-3-211-214.
4. Жариков А.Н., Лубянский В.Г., Алиев А.Р. Повторные резекции тонкой кишки и применение новых тонкокишечных анастомозов в условиях послеоперационного перитонита // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского. 2020;8(1):22-28. DOI: 10.33029/2308-1198-2020-8-1-22-28.
5. Ataro G. Epidural block and neostigmine cause anastomosis leak // Open Access Surg. 2016;9:37-38. DOI: 10.2147/OAS.S105594.
6. Агаев Э.К., Исмаиловой З.Э., Мамедов Т.Э. Профилактика несостоятельности швов кишечных анастомозов // Новости хирургии. 2022;30(1):86-94. DOI: 10.18484/2305-0047.2022.1.86.
7. Суковатых Б.С., Мосолова А.В., Затолокина М.А. и др. Профилактика несостоятельности кишечного шва в условиях экспериментального распространенного перитонита // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2021;16(3):52-56. DOI: 10.25881/20728255_2021_16_3_52.
8. Surgical site infections: prevention and treatment. NICE guideline [NG 125]. URL: www.nice.org.uk/guidance/ng125 (дата обращения: 05.06.2023).
9. Кайтмазова Н.К. Микробиота кишечника и ее влияние на организм // Современные вопросы биомедицины. 2022;6(3):8. DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_8.
10. Hall A.B., Tolonen A.C., Xavier R.J. Human genetic variation and the gut microbiome in disease // Nat.

REFERENCES

1. Minnullin M.M., Krasilnikov D.M., Zainullin I.V. et al. Surgical tactics in case of isolated injuries of small and large intestine. *Practical Medicine*. 2016;5(97):83-87. (In Russ.)
2. Wainer Yu.S., Atamanov K.V., Veryatin Ya.A. Regulation of the inflammatory response in intestinal anastomosis. *Issues of Reconstructive and Plastic Surgery*. 2017;3(62):27-32. DOI: 10.17223/1814147/62/04. (In Russ.)
3. Ermolov A.S., Volenko A.V., Gorskiy V.A. et al. Radical elimination of the source of peritonitis is the cardinal problem of surgical treatment of peritonitis. *Annals of Surgery, Russian Journal*. 2016;21(3):211-214. DOI: 10.18821/1560-9502-2016-21-3-211-214. (In Russ.)
4. Zharikov A.N., Lubyansky V.G., Aliev A.R. Repeated resections of the small bowel and placement of new small-bowel anastomoses in the case of postoperative peritonitis. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2020;8(1):22-28. DOI: 10.33029/2308-1198-2020-8-1-22-28. (In Russ.)
5. Ataro G. Epidural block and neostigmine cause anastomosis leak. *Open Access Surg*. 2016;9:37-38. DOI: 10.2147/OAS.S105594.
6. Aghaev E.K., Ismayilova Z.E., Mamedov T.E. Prevention suture insufficiency in intestinal anastomoses. *Novosti Khirurgii*. 2022;30(1):86-94. DOI: 10.18484/2305-0047.2022.1.86. (In Russ.)
7. Sukovatykh B.S., Mosolova A.V., Zatolokina M.A. et al. Prevention of intestinal seal insurance under experimental expanded peritonitis. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2021;16(3):52-56. DOI: 10.25881/20728255_2021_16_3_52. (In Russ.)
8. Surgical site infections: prevention and treatment. NICE guideline [NG 125]. URL: www.nice.org.uk/guidance/ng125 (accessed 05.06.2023).
9. Kajtmazova N.K. Gut microbiota and its impact on the body. *Modern Issues of Biomedicine*. 2022;6(3):8. DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_8. (In Russ.)
10. Hall A.B., Tolonen A.C., Xavier R.J. Human genetic variation and the gut microbiome in disease. *Nat.*

- Rev. Genet. 2017;18(11):690-699. DOI: 10.1038/nrg.2017.63.
11. Kinross J., von Roon A.C., Penney N. et al. The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improved patient care // *Curr. Pharm. Des.* 2009;15(13):1537-1545. DOI: 10.2174/138161209788168119.
 12. Saha S., Mara K., Pardi D.S., Khanna S. Long-term safety of fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridioides difficile* infection // *Gastroenterology*. 2021;160:1961-1969 DOI: 10.1053/j.gastro.2021.01.010.
 13. Lopez-Siles M., Enrich-Capo N., Aldeguer X. et al. Alterations in the abundance and co-occurrence of *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* in the colonic mucosa of inflammatory bowel disease subjects // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018;8:281. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00281.
 14. Leylabadlo H.E., Ghotaslou R., Feizabadi M.M. et al. The critical role of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health: an overview // *Microb. Pathog.* 2020;149:104344. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104344.
 15. Веселов В.В., Нечипай А.М., Полторыхина Е.А., Васильченко А.В. Первый опыт полноспектральной колоноскопии // *Колопроктология*. 2017;2(60):36-46.
 16. Кайбышева В.О., Жарова М.Е., Филимендикова К.Ю., Никонов Е.А. Микробиом человека: возрастные изменения и функции // *Доказательная гастроэнтерология*. 2020;9(2):42-55. DOI: 10.17116/dokgastro2020902142.
 17. Чернин В.В., Бондаренко В.М., Парфенов А.И. Участие просветной и мукозной микробиоты кишечника человека в симбиотном пищеварении // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2013;(4):10.
 11. Kinross J., von Roon A.C., Penney N. et al. The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improved patient care. *Curr. Pharm. Des.* 2009;15(13):1537-1545. DOI: 10.2174/138161209788168119.
 12. Saha S., Mara K., Pardi D.S., Khanna S. Long-term safety of fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridioides difficile* infection. *Gastroenterology*. 2021;160:1961-1969 DOI: 10.1053/j.gastro.2021.01.010.
 13. Lopez-Siles M., Enrich-Capo N., Aldeguer X. et al. Alterations in the abundance and co-occurrence of *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* in the colonic mucosa of inflammatory bowel disease subjects. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018;8:281. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00281.
 14. Leylabadlo H.E., Ghotaslou R., Feizabadi M.M. et al. The critical role of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health: an overview. *Microb. Pathog.* 2020;149:104344. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104344.
 15. Veselov V.V., Nechipai A.M., Poltorykhina E.A., Vasilchenko A.V. First experience in full-spectrum colonoscopy. *Koloproctologia*. 2017;2(60):36-46. (In Russ.)
 16. Kaybysheva V.O., Zharova M.E., Filimendikova K.Yu., Nikonov E.A. Human microbiome: age-related changes and functions. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2020;9(2):42-55. DOI: 10.17116/dokgastro2020902142. (In Russ.)
 17. Chernin V.V., Bondarenko V.M., Parfenov A.I. The participate of human lumen and mucosal gut microbiota in symbiotic digestion. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2013;(4):10. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кузнецов Алексей Владимирович – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-4071-955X.

Сорокин Олег Викторович – канд. мед. наук, генеральный директор ООО «ВедаГенетика», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7227-4471.

Костина Лариса Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0282-1665.

Карпов Михаил Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-8200-3998.

ABOUT THE AUTHORS

Alexey V. Kuznetsov – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4071-955X.

Oleg V. Sorokin – Cand. Sci. (Med.), Director General, VedaGenetics LLC, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7227-4471.

Larisa Yu. Kostina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0282-1665.

Mikhail A. Karpov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8200-3998.

Aleksandr P. Nadeev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0400-1011

Надеев Александр Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0400-1011

Долгов Владимир Васильевич – студент 4-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0007-8081-3819.

Глазков Артур Александрович – врач-ординатор кафедры госпитальной и детской хирургии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-4964-6860.

Vladimir V. Dolgov – 4th year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0007-8081-3819.

Artur A. Glazkov – Resident Physician, Department of Hospital and Pediatric Surgery, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4964-6860.



Исследование антиноцицептивных свойств новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина в тесте тепловой иммерсии хвоста

И.В. Бибик¹, К.А. Фролов^{1,2}, В.В. Доценко^{2,3}, С.Г. Кривоколыско^{1,2}, Е.Ю. Бибик¹

¹ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», Луганск, Россия

²ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет им. Владимира Даля», Луганск, Россия

³ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», Краснодар, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . В настоящее время поиск новых высокоэффективных и безопасных болеутоляющих средств является актуальным направлением современных фармакологических исследований.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Изучить антиноцицептивную активность десяти образцов новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина в классическом тесте тепловой иммерсии хвоста.

М е т о д ы . Синтезированные нами на базе научной-исследовательской лаборатории «Химэкс» (Луганский государственный университет им. Владимира Даля) 340 новых производных цианотиоацетамида были подвергнуты виртуальному биоскринингу. В результате были выбраны 10 соединений, наиболее перспективных для фармакокоррекции болевого синдрома. В эксперименте (тест тепловой иммерсии хвоста) использовали белых крыс-самцов, распределенных на 13 групп, по 10 особей в каждой: интактная, контрольная (0.9% раствор натрия хлорида), сравнения (метамизол натрия) и 10 опытных (по числу вводимых соединений). Соединения вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг за 1.5 ч до погружения хвоста в горячую воду.

Р е з у л ь т а т ы . Установлено, что отчетливо выраженную анальгетическую активность проявили три образца с лабораторными шифрами AZ420, AZ331 и AZ383. Показатель времени отдергивания хвоста крыс этих опытных групп составил от 31.4 с (AZ331) до 46.4 с (AZ383), при этом степень достоверности различий *p* с показателями контрольной группы составила от 0.00073 (AZ420) до 0.00018 (AZ383).

З а к л ю ч е н и е . Установлены четыре новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина с высокой анальгетической активностью, перспективных для дальнейших доклинических исследований.

Ключевые слова: конденсированные тиенопиридины, 1,4-дигидропиридины, антиноцицептивные свойства.

Образец цитирования: Бибик И.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г., Бибик Е.Ю. Исследование антиноцицептивных свойств новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина в тесте тепловой иммерсии хвоста // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):23-34. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-23-34

Investigation of antinociceptive properties of new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine in the tail immersion test

I.V. Bibik¹, K.A. Frolov^{1,2}, V.V. Dotsenko^{2,3}, S.G. Krivokolysko^{1,2}, E.Yu. Bibik¹

¹St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russia

²Vladimir Dahl Lugansk State University, Lugansk, Russia

³Kuban State University, Krasnodar, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Nowadays, the search for novel painkillers that exhibit both high efficacy and safety profiles is an essential problem of modern pharmacological research.

Поступила в редакцию 08.01.2023
Прошла рецензирование 24.01.2023
Принята к публикации 12.02.2023

Автор, ответственный за переписку
Бибик Игорь Валерьевич: ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». 91045, г. Луганск, квартал 50-летия Обороны Луганска, д. 1г.
E-mail: dr.bibik.i.v@yandex.ru

Received 08.01.2023
Revised 24.01.2023
Accepted 12.02.2023

Corresponding author
Igor V. Bibik: St. Luka Lugansk State Medical University, 1G, quarter of the 50th anniversary of the Defence of Lugansk, Lugansk, 91045, Russia.
E-mail: dr.bibik.i.v@yandex.ru

A i m . To study the antinociceptive activity of ten samples of new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine in the classical tail immersion test.

M e t h o d s . 340 new cyanothioacetamide derivatives that were synthesized by us at the Chemex Research Laboratory (Vladimir Dahl Lugansk State University) underwent *in silico* screening. As a result, 10 compounds were selected that were the most promising for the pharmacological management of pain. In the experiment (tail immersion test), albino male rats were used, divided into 13 groups, 10 animals in each: the intact group, the control group (0.9% sodium chloride solution), the comparison group (metamizole sodium) and 10 experimental groups (according to the number of administered compounds). The compounds were administered intragastrically at a dose of 5 mg/kg 1.5 h before immersing the tail in hot water.

R e s u l t s . It was established that three samples with codenames AZ420, AZ331 and AZ383 showed a significant antinociceptive activity. The tail-flick time of rats in these experimental groups ranged from 31.4 s (AZ331) to 46.4 s (AZ383), while the significance of the differences *p* in comparison with the values of the control group ranged from 0.00073 (AZ420) to 0.00018 (AZ383).

C o n c l u s i o n s . Four new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine with high analgesic activity, promising for further preclinical studies, have been identified.

Keywords: fused thienopyridines, 1,4-dihydrothiopyridines, antinociceptive properties.

Citation example: Bibik I.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G., Bibik E.Yu. Investigation of antinociceptive properties of new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine in the tail immersion test. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):23-34. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-23-34

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире, даже несмотря на разнообразие лекарственных препаратов для купирования боли, актуальной проблемой в медицинской практике является адекватная, рациональная и безопасная фармакотерапия болевого синдрома [1–3]. Наиболее частой причиной обращения пациентов за медицинской помощью является боль, что особенно характерно для стоматологической практики. Однако, являясь крайне неприятным симптомом, боль служит важнейшим клиническим ориентиром для полноценного диагностирования и рационального назначения фармакотерапии [4–6]. Полноценное устранение боли, особенно на предоперационном и послеоперационном этапе, служит критерием качества стоматологического лечения [7, 8]. При этом в настоящее время врачам различной специализации не всегда удается достичь полноценного болеутоляющего и противовоспалительного действия и избежать нежелательных эффектов в процессе фармакотерапии. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) обладают значительным количеством и выраженностью неблагоприятных воздействий, а именно: язвенно-эрозивным, гематотоксическим, гепатотоксическим, кардиотоксическим и нефротоксическим эффектами [9]. В этой связи научные исследования, способствующие поиску новых болеутоляющих средств с высоким профилем безопасности, остаются актуальными на сегодняшний день.

INTRODUCTION

Nowadays, even despite the variety of painkillers, an urgent problem in medical practice is adequate, rational and safe pharmacotherapy of pain syndrome [1–3]. The most frequent reason for patients to seek medical help is pain, which is especially true in dental practice. However, being an extremely unpleasant symptom, pain is the most important clinical requirement for correct diagnosis and appropriate pharmacotherapy [4–6]. Appropriate pain management, especially at the preoperative and postoperative stages, is a criterion for the quality of dental treatment [7, 8]. At the same time, at present, doctors of various specializations are not always able to achieve complete analgesic and anti-inflammatory effects and avoid undesirable effects during pharmacotherapy. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have a number of adverse side effects, namely ulcerogenic, hematotoxic, hepatotoxic, cardiotoxic and nephrotoxic ones [9]. In this regard, scientific research contributing to the search for new analgesics with a high safety profile remains relevant.

Over the last decade, new organic compounds from several cyanothioacetamide derivatives have been of particular interest for scientists in the field of chemistry, biology, pharmacology and medicine, since cyanothioacetamide is an affordable and polyfunctional reagent widely used in synthetic organic chemistry. One of the main uses of cyanothioacetamide is the synthesis of a wide range of *S,N*-hetero-

В последнее десятилетие новые органические соединения из ряда производных цианотиоацетамида представляют особый интерес для ученых химического, биологического, фармацевтического и медицинского профиля, поскольку цианотиоацетамид является доступным и полифункциональным реагентом, широко используемым в синтетической органической химии. Одним из главных направлений использования цианотиоацетамида является синтез широкого круга *S,N*-гетероциклических соединений, к важнейшим из которых следует отнести 3-цианопиридин-2(1*H*)-тионы [10–12].

Производные цианотиоацетамида в настоящее время можно считать перспективными биологически активными соединениями с разнообразными фармакодинамическими свойствами [13–16]. Это и высокая противовирусная активность, противовоспалительные и аналептические свойства [17–19]. Кроме этого, результаты исследований острой пероральной токсичности производных цианотиоацетамида *in vivo* показали, что они имеют низкую токсичность (4–5-й класс токсичности).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антиноцицептивной активности новых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина в классическом фармакологическом тесте тепловой иммерсии хвоста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На подготовительном этапе перед разработкой дизайна эксперимента для определения наиболее перспективных соединений с учетом предполагаемых биомишеней для фармакокоррекции болевого, воспалительного или лихорадочного синдромов мы провели виртуальный биоскрининг 340 синтезированных нами на базе научно-исследовательской лаборатории «Хим-экс» Луганского государственного университета им. Владимира Даля новых производных цианотиоацетамида с использованием следующих ресурсов: Swiss Target Prediction (Swiss Institute of Bioinformatics; <http://swisstargetprediction.ch/index.php>), PASS Online (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>), OSIRIS Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>) [20–22].

В результате были выбраны десять образцов новых гетероциклических соединений, содержащих 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридиновый и 1,4-дигидропиридиновый фрагменты, наиболее

cyclic compounds, the most important of which include 3-cyanopyridin-2(1*H*)-thiones [10–12].

Currently, cyanothioacetamide derivatives can be considered promising biologically active compounds with diverse pharmacodynamic properties [13–16], as follows: antiviral activity, anti-inflammatory and reinforcing properties [17–19]. In addition, the results of *in vivo* studies of acute oral toxicity of cyanothioacetamide derivatives showed that they have low toxicity (toxicity grade 4–5).

AIM OF THE RESEARCH

To study the antinociceptive activity of new derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine in the classical tail immersion test.

MATERIALS AND METHODS

Before developing the study design to identify the most promising compounds taking into account biotargets for pharmacological pain management, inflammatory, or febrile syndromes, we performed *in silico* screening of 340 new cyanothioacetamide derivatives synthesised by us at the Chemex Research Laboratory (Vladimir Dahl Lugansk State University) using the following resources: Swiss Target Prediction (Swiss Institute of Bioinformatics; <http://swisstargetprediction.ch/index.php>), PASS Online (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>), OSIRIS Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>) [20–22].

As a result, ten samples of new heterocyclic compounds containing 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine fragments were selected, the most promising ones taking into account the putative biotargets for pharmacological management of pain *in vivo*. These samples were code-named AZ023, AZ169, AZ213, AZ257, AZ331, AZ383, AZ420, AZ729, AU04271 and AU04288. The structure and chemical formulas of the new heterocyclic compounds selected in this way are shown in Fig. 1. According to the results of *in silico* screening, their biotargets are arachidonate 5-lipoxygenase, cyclooxygenase-2, phospholipase A2, phosphodiesterase, prostanoid, somatostatin, adenosine and cannabinoid receptors. Having planned a series of *in vivo* experiments to study the analgesic and anti-inflammatory profile of the synthesized compounds, among the recommended various classical pharmacological tests, we chose the tail immersion test.

The experiment was carried out on 130 outbred albino male rats weighing 250–280 g, received from the vivarium of the St. Luka Lugansk State Medical University during autumn-winter period in the labo-

перспективных с учетом предполагаемых биомишеней для фармакокоррекции болевого синдрома *in vivo*. Это образцы с лабораторными шифрами: AZ023, AZ169, AZ213, AZ257, AZ331, AZ383, AZ420, AZ729, AU04271 и AU04288. Структура и химические формулы новых гетероциклических соединений, отобранных таким образом, приведены на рис. 1. Биомишенями для них по результатам виртуального биоскрининга являются арахидонат-5-липоксигеназа, циклооксигеназа-2, фосфолипаза A2, фосфодиэстераза, простагландин, соматостатиновые, аденозиновые и каннабиоидные рецепторы. Спланировав серию фармакологических исследований в опытах *in vivo* по изучению болеутоляющей и противовоспалительной активности синтезированных соединений, среди рекомендуемых различных классических фармакологических тестов мы выбрали тест тепловой иммерсии хвоста.

Эксперимент проведен на 130 белых беспородных крысах-самцах массой 250–280 г, полученных из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки» (ЛГМУ) в осенне-зимний период в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии. Рандомизация проводилась методом «конвертов».

Животные были распределены в интактную, контрольную (крысам вводили 2 мл 0.9% раствора натрия хлорида внутривенно до проведения теста), сравнения (референтную) (получавшие метамизол натрия) и 10 опытных групп, по количеству исследуемых новых производных конденсированных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридинов и 1,4-дигидропиридина. В каждой группе было по 10 крыс.

Исследования проведены в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 199н (Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики). На протяжении всего периода исследований животные находились под наблюдением со свободным доступом к воде и пище, что соответствует ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст). Исследование одобрено комиссией по биоэтике ЛГМУ (протокол от 01.11.2021 г. № 6).

Среди общепринятых методов оценки термической боли нами был выбран тест тепловой иммерсии хвоста, основанный на спинальном флексорном рефлексе в ответ на погружение хвоста в горячую воду. Болевое раздражение моде-

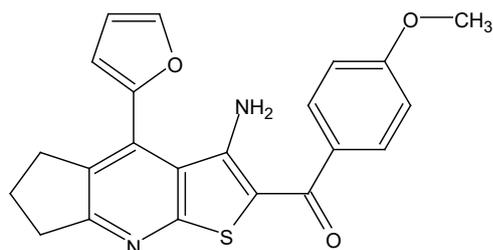
ратory of the Fundamental and Clinical Pharmacology Department. Randomisation was performed using the envelope method.

The animals were divided into the intact group, the control group (rats were injected with 2 ml of 0.9% sodium chloride solution intragastrically before the test), the comparison (reference) group (received metamizole sodium) and 10 experimental groups, according to the number of new fused derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridines and 1,4-dihydropyridine. There were 10 rats in each group.

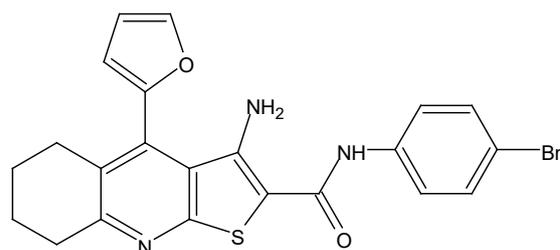
The study was carried out in compliance with the order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated April 1, 2016 No. 199n (On approval of the Rules of Good Laboratory Practice). Throughout the whole study, the animals were under the supervision having free access to water and food, which corresponds to GOST 33044-2014 “Principles of Good Laboratory Practice” (approved by order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology dated November 20, 2014 No. 1700-st). The study was approved by the Commission for Bioethics of the St. Luka Lugansk State Medical University (protocol dated November 1, 2021 No. 6).

Among the conventional methods for thermal pain assessment, we chose the tail immersion test, based on the spinal flexor reflex in response to immersion of a tail in hot water. Painful stimulation was induced by immersing the tail into a vessel with water heated to 50–54°C, recording latency of response. Analgesic activity was assessed by prolongation of the tail-flick time after exposure according to [23]. Metamizole sodium (Analgin, Pharmstandard OJSC) at a dose of 7 mg/kg was used as a reference drug for animals of the reference group. Ten samples of the original newly synthesized compounds were administered via a gastric tube at a dose of 5 mg/kg for 1.5 hours before the start of thermal exposure. This dosage was chosen as optimal based on a previously conducted experiment on the dosage for other cyanothioacetamide derivatives. According to the guidelines for preclinical studies of new biologically active compounds, the criterion for analgesic effect is considered to be a significant increase in latency of the response after substance administration.

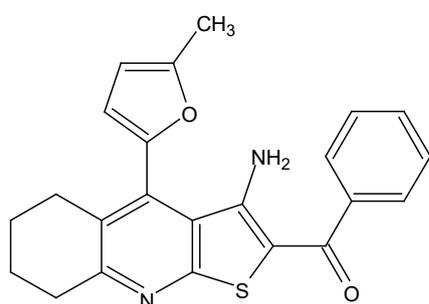
Statistical processing of the obtained results was carried out according to [24] and using conventional formulas and statistical methods characterizing quantitative variability. When processing experimental data, we determined the arithmetic mean of the latency duration before the onset of tail-flick *a*;



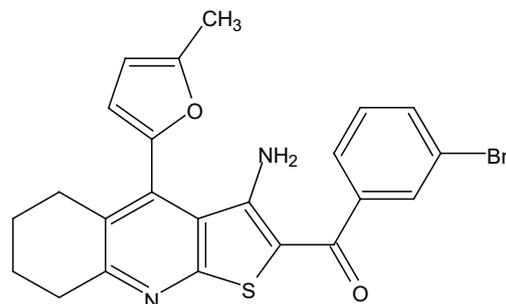
AU04288 [3-амино-4-(2-фурил)-6,7-дигидро-5H-циклопента[b]тиено[3,2-е]пиридин-2-ил]-(4-метоксифенил)метанон
AU04288 [3-amino-4-(2-furyl)-6,7-dihydro-5H-cyclopenta[b]thieno[3,2-e]pyridin-2-yl]-(4-methoxyphenyl)methanone



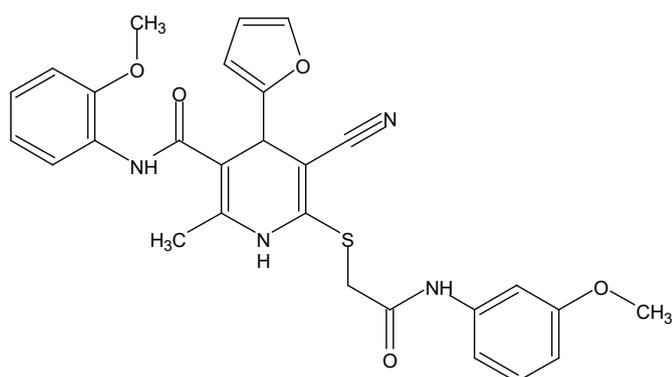
AU04271 3-амино-N-(4-бромофенил)-4-(2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидротиено[2,3-б]хинолин-2-карбоксамид
AU04271 3-amino-N-(4-bromophenyl)-4-(2-furyl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinoline-2-carboxamide



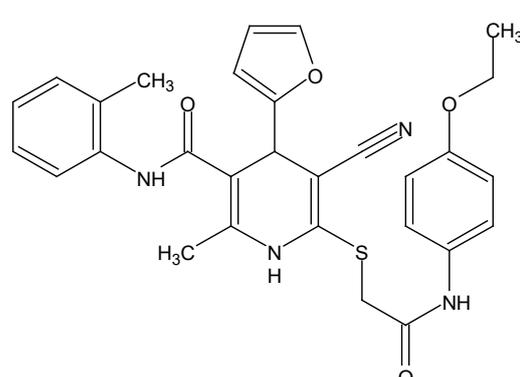
AZ023 [3-амино-4-(5-метил-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидротиено[2,3-б]хинолин-2-ил]-(фенил)метанон
AZ023 [3-amino-4-(5-methyl-2-furyl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinolin-2-yl](phenyl)methanone



AZ729 [3-амино-4-(5-метил-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидротиено[2,3-б]хинолин-2-ил]-(3-бромофенил)метанон
AZ729 [3-amino-4-(5-methyl-2-furyl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinolin-2-yl](3-bromophenyl)methanone

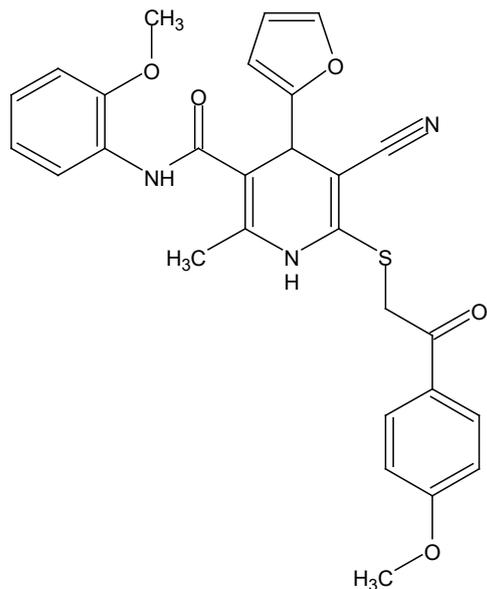


AZ420 5-циано-4-(2-фурил)-N-(2-метоксифенил)-6-({2-[(3-метоксифенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид
AZ420 5-cyano-4-(2-furyl)-N-(2-methoxyphenyl)-6-({2-[(3-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide



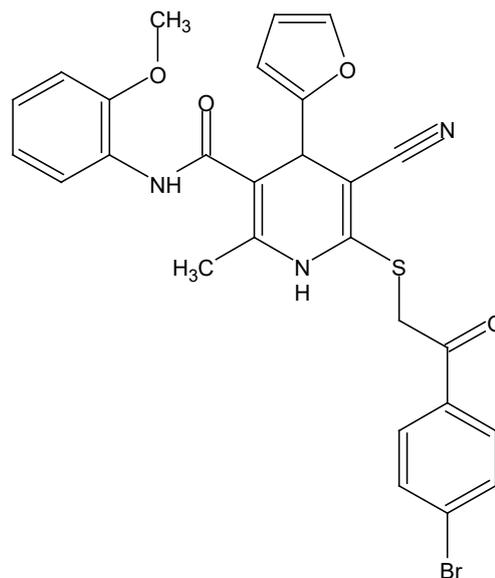
AZ383 5-циано-6-({2-[(4-этоксифенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-4-(2-фурил)-2-метил-N-(2-метилфенил)-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид
AZ383 5-cyano-6-({2-[(4-ethoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-N-(2-methylphenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide

Рис. 1. Структурные формулы и названия по номенклатуре ИЮПАК для исследуемых 3-аминотиено[2,3-б]пиридинов и 1,4-дигидропиридинов
Fig. 1. Structural formulas and International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) names of the studied 3-aminothieno[2,3-b]pyridines and 1,4-dihydropyridines



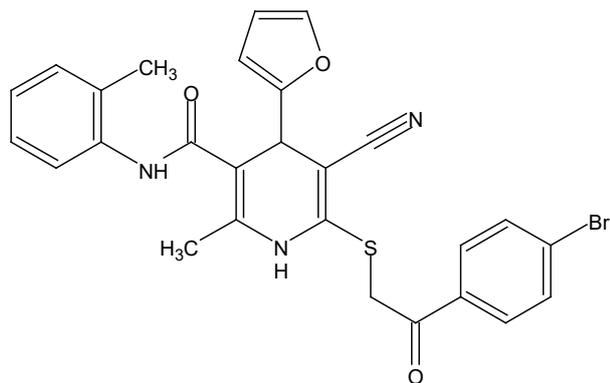
AZ331 5-циано-4-(2-фурил)-*N*-(2-метоксифенил)-6-{{2-(4-метоксифенил)-2-оксоэтил}тио}-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид

AZ331 5-cyano-4-(2-furyl)-*N*-(2-methoxyphenyl)-6-{{2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl}thio}-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide



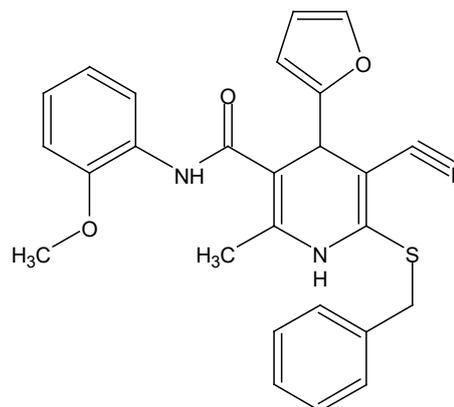
AZ257 6-{{2-(4-бромифенил)-2-оксоэтил}тио}-5-циано-4-(2-фурил)-*N*-(2-метоксифенил)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид

AZ257 6-{{2-(4-bromophenyl)-2-oxoethyl}thio}-5-cyano-4-(2-furyl)-*N*-(2-methoxyphenyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide



AZ213 6-{{2-(4-бромифенил)-2-оксоэтил}тио}-5-циано-4-(2-фурил)-2-метил-*N*-(2-метилфенил)-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид

AZ213 6-{{2-(4-bromophenyl)-2-oxoethyl}thio}-5-cyano-4-(2-furyl)-2-methyl-*N*-(2-methylphenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide



AZ169 6-(бензилтио)-5-циано-4-(2-фурил)-*N*-(2-метоксифенил)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид

AZ169 6-(benzylthio)-5-cyano-4-(2-furyl)-*N*-(2-methoxyphenyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide

Окончание рис. 1 / Ending of Fig. 1

лировали при погружении хвоста в сосуд с водой, нагретой до 50–54 °С, регистрируя латентный период реакции. Анальгетическая активность оценивалась по удлинению времени реакции отдергивания хвоста согласно [23]. В качестве препарата сравнения для животных референтной группы использован метамизол натрия – Анальгин (ОАО «Фармстандарт») в дозе 7 мг/кг. Десять образцов оригинальных вновь синтезиро-

dispersion of σ^2 values relative to the arithmetic mean; standard deviation σ ; variation coefficient V . The significance of differences was calculated according to the Wilcoxon signed-rank test in comparison with the control group of animals. To construct plots and determine the degree of the significance of differences, the R language and Rstudio software (version 4.0.5) were used; to visualize the results – R packages ggplot2, ggrepel, ggsignif.

ванных соединений вводили через желудочный зонд в дозе 5 мг/кг за 1.5 ч до начала термического воздействия. Эта дозировка была выбрана как оптимальная на основании ранее проведенного эксперимента по дозовому режиму для других производных цианоацетамида. Согласно руководству по доклиническим исследованиям новых биологически активных соединений, критерием анальгетического эффекта принято считать достоверное увеличение латентного периода реакции после введения вещества.

Статистическая обработка полученных результатов производилась согласно [24] и с использованием известных формул и методов математической статистики, характеризующей количественную изменчивость. При обработке экспериментальных данных определяли среднее арифметическое времени латентного периода до начала отдергивания хвоста a ; дисперсию значений σ^2 относительно среднего арифметического; среднеквадратическое отклонение σ ; коэффициент вариации V . Достоверность отличий рассчитывали по Уилкоксоу в сравнении с контрольной группой животных. Для построения графиков и установления степени достоверности различий использовали язык R, программы Rstudio (версия 4.0.5); для визуализации результатов – R библиотеки ggplot2, ggrepel, ggsignif.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В нашем экспериментальном исследовании средние численные значения времени отдергивания хвоста из сосуда с горячей водой у крыс контрольной группы без фармакокоррекции составляют 9.4 с. Предварительное введение метамизола натрия крысам референтной группы увеличивает его до 14.2 с.

Полученные в тесте тепловой иммерсии хвоста данные, свидетельствующие о наличии в спектре фармакодинамических эффектов отдельных новых оригинальных конденсированных производных тиенопиридинов и 1,4-дигидропиридинов антиноцицептивных свойств, представлены на рис. 2. Как видно из приведенных на рисунке данных, у животных пяти опытных групп, получавших различные образцы изучаемых производных конденсированных тиенопиридинов и 1,4-дигидропиридинонов с лабораторными шифрами AZ257, AZ169, AZ729, AU04271 и AU04288, время отдергивания хвоста составило от 7.8 до 10.2 с. Достоверных отличий для них в сравнении со значениями контрольной группы не установлено.

RESULTS

In our study, the average tail-flick time in rats of the control group without analgesia was 9.4 s. Preliminary administration of metamizole sodium to rats of the reference group increases it to 14.2 s.

The data obtained during the tail immersion test, which indicate the presence of antinociceptive properties in the pharmacodynamic effect range of certain new original synthesized derivatives of thienopyridines and 1,4-dihydropyridines, are presented in Fig. 2. As can be seen from the data in the figure, in animals of five experimental groups that have received various samples of the studied derivatives of fused thienopyridines and 1,4-dihydrothiopyridines with code names AZ257, AZ169, AZ729, AU04271 and AU04288, the tail-flick time ranged from 7.8 to 10.2 s. Significant differences for them in comparison with the values of the control group were not revealed.

Among the experimental groups of animals, a new derivative of 1,4-dihydropyridine AZ213 exhibited analgesic activity similar to the reference drug (metamizole sodium) (Fig. 2).

The results obtained indicate that a new heterocyclic compound, a derivative of fused thienopyridines AZ023, showed moderate analgesic activity two-fold higher in comparison with the reference drug (metamizole sodium). Its ability to increase the latency of tail-flick from a container of hot water averages 28.0 s.

Three samples leading in terms of the presence of antinociceptive properties showed a significant analgesic activity. These are compounds AZ331, AZ420 and AZ383.

The tail-flick time in the experimental group, which received a compound from a series of 1,4-dihydropyridine derivatives AZ331 via a gastric tube according to the study design, averaged 31.4 s for the group, while the significance of differences p compared with the values of the control group was 0.00037. When compared with the values in the comparison group, the studied indicator exceeds the latter by 2.21 times.

The synthesized new derivative of 1,4-dihydropyridine AZ420, administered 90 min before the test to rats of the corresponding experimental group, according to the results of the studies, can significantly increase the tail-flick time in comparison with the control group ($p = 0.00073$) up to 42.6 s. This is three times more than when using metamizole sodium under similar conditions.

According to the results of our studies, the highest analgesic activity in this pharmacological test was

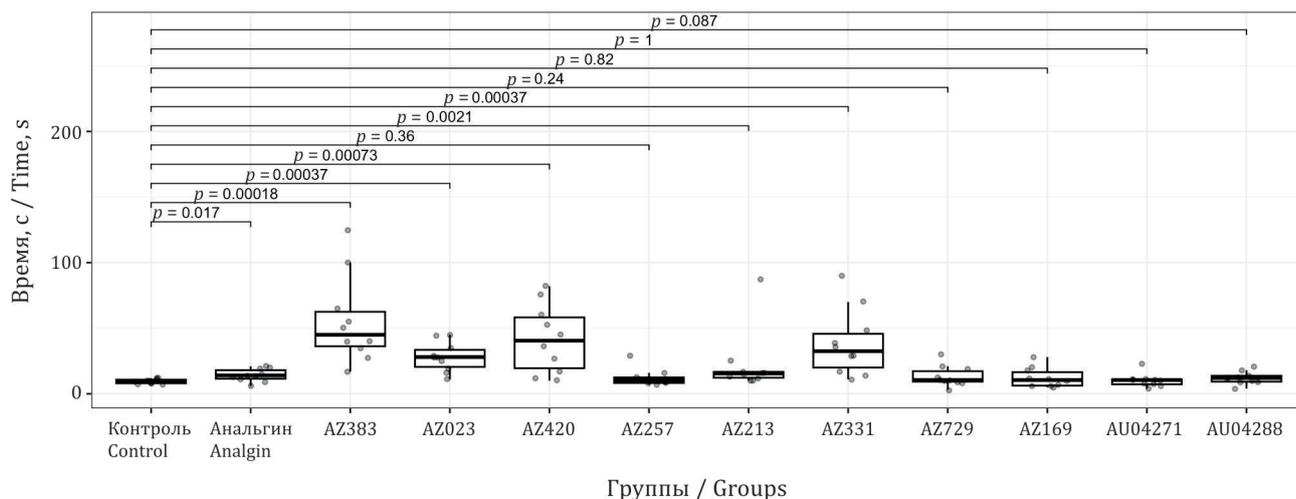


Рис. 2. Длительность латентного времени отдергивания хвоста у крыс различных групп с показателями достоверности в тесте Уилкоксона
Fig. 2. The duration of latency of tail-flick in rats of different groups and the significance level according to the Wilcoxon signed-rank test

Среди опытных групп животных в проведенном эксперименте аналогичную препарату сравнения (метамизол натрия) анальгетическую активность проявляет новое производное 1,4-дигидропиридина с шифром AZ213 (см. рис. 2).

Полученные в эксперименте на лабораторных животных результаты свидетельствуют о том, что умеренную болеутоляющую активность, двухкратно превышающую таковую у препарата сравнения – метамизола натрия, показало новое гетероциклическое соединение, производное конденсированных тиенопиридинов с лабораторным шифром AZ023. Его способность увеличивать латентное время отдергивания хвоста из сосуда с горячей водой составляет в среднем 28.0 с.

Отчетливо выраженную анальгетическую активность проявили три образца-лидера в плане наличия антиноцицептивных свойств – это соединения с шифрами AZ331, AZ420 и AZ383.

Время отдергивания хвоста крыс опытной группы, получавших через желудочный зонд по схеме эксперимента соединение из ряда дериватов 1,4-дигидропиридина с шифром AZ331, составило в среднем 31.4 с по группе, при этом степень достоверности различий p по сравнению с показателями контрольной группы составила 0.00037. Сравнивая со значениями в группе сравнения, исследуемый показатель превосходит последние в 2.21 раза.

Синтезированное новое производное 1,4-дигидропиридина под шифром AZ420, вводимое за 90 мин до проведения теста крысам соответствующей опытной группы, по результатам прове-

demonstrated by a dihydropyridine derivative AZ383 (tail-flick time – 46.4 s). This is 3.27 times higher than in animals received metamizole sodium.

Thus, the tail immersion test, carried out on outbred albino rats, showed the presence of analgesic activity in the five studied derivatives of 3-aminothieno[2,3-*b*]pyridine and 1,4-dihydropyridine. The leaders in terms of analgesic properties are samples codenamed AZ331, AZ420 and AZ383. They are 2.21–3.27 times more effective than metamizole sodium.

In the future, the prospects for our research will be to confirm their analgesic activity using other classical tests, to identify the antiexudative effects of these compounds, as well as study their acute and chronic oral toxicity.

Dynamic follow-up of laboratory animals for 3 days after the pharmacological experiment showed that rats of all experimental groups did not visually differ in behavior from rats of the control and reference groups.

DISCUSSION

In recent years, a very popular trend in drug development is synthesis of so-called hybrid molecules [16–19]. This concept is based on the combination in one molecule of fragments with different pharmacotherapeutic properties bound directly or through a flexible spacer. The consequence of such conjugation may be an increase in the effect of a drug due to more effective binding to the protein target, emergence of new types of activity, elimination of side effects, or a decrease in drug resistance. The compounds we synthesized consist of both pharma-

денных исследований способно достоверно в сравнении с контрольной группой ($p = 0.00073$) увеличивать время отдергивания хвоста из сосуда с горячей водой до 42.6 с. Это в 3.27 раза больше, чем после применения метамизола натрия в аналогичных условиях.

Самую высокую болеутоляющую активность по результатам наших исследований в этом фармакологическом тесте проявил дериват дигидропиридина с лабораторным шифром AZ383 (время отдергивания хвоста – 46.4 с). Это в 3.27 раза больше показателя у животных, получавших метамизол натрия.

Таким образом, тест тепловой иммерсии хвоста, проведенный с белыми беспородными крысами, показал наличие анальгетической активности у пяти исследуемых производных 3-аминотиено[2,3-*b*]пиридина и 1,4-дигидропиридина. Лидерами в плане болеутоляющих свойств являются образцы с шифрами AZ331, AZ420 и AZ383. Они эффективнее метамизола натрия в 2.21–3.27 раза.

В дальнейшем перспективами наших исследований будут подтверждение их анальгетической активности в других классических тестах, выявление антиэкссудативных эффектов данных соединений, а также изучение их острой и хронической пероральной токсичности.

Наблюдение в динамике на протяжении 3 сут после фармакологического эксперимента за лабораторными животными показало, что крысы всех опытных групп визуально по поведенческой активности не отличались от крыс контрольной и референтной групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы весьма популярным направлением разработки лекарственных средств является синтез так называемых гибридных, или мультимодальных, молекул [16–19]. Данная концепция основана на соединении в одной молекуле фрагментов с различным фармакотерапевтическим профилем, связанных непосредственно либо через гибкий спейсер. Следствием такой «конъюгации» может быть усиление действия препарата за счет более эффективного связывания с протеиновой мишенью, возникновение новых видов активности, устранение побочных эффектов или снижение резистентности к препарату. Синтезированные нами соединения несут фармакофорные фрагменты тиенопиридина либо 1,4-дигидропиридина, с одной стороны, и фармакофорный фурильный (5-метилфурильный) остаток – с другой.

cophoric fragments of thienopyridine or 1,4-dihydropyridine and the pharmacophoric furyl (5-methylfuryl) residue.

The pronounced antinociceptive activity of the leader sample, thienopyridine AZ420, that we have revealed in the animal experiments, are comparable with the results of previously *in silico* screening. It should be noted that this biologically active compound can potentially affect the activity of serine/threonine protein kinase, phospholipase A2, arachidonate 5-lipoxygenase and beta-secretase.

The sample codenamed AZ331, selected from the Chemex laboratory's abundant library of novel organic compounds, can bind to collagenase-3, phospholipase A2, arachidonate 5-lipoxygenase and endothelial ET(A) and ET(B) receptors. This correlates with our findings of relatively high analgesic activity.

The third leading sample in the study is a new 1,4-dihydropyridine derivative codenamed AZ383. According to the results of the target prediction, this compound has the potential to bind to arachidonate 5-lipoxygenase and act upon adenosine receptors A1 and A2B and COX-2.

CONCLUSION

Experiments conducted *in vivo* using the tail immersion test for ten new thienopyridine and 1,4-dihydropyridine derivatives showed the presence of a significant antinociceptive activity when used at a dose of 5 mg/kg in the followed three compounds:

- AZ420 (5-cyano-4-(2-furyl)-*N*-(2-methoxyphenyl)-6-({2-[(3-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide) (3 times more effective than metamizole sodium);
- AZ331 (5-cyano-4-(2-furyl)-*N*-(2-methoxyphenyl)-6-{{2-[(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl]thio}-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide) (2.21 times more effective than metamizole sodium);
- AZ383 (5-cyano-6-{{2-[(4-ethoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-*N*-(2-methylphenyl)-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide) (3.37 times more effective than metamizole sodium).

Also, a new thienopyridine derivative AZ023 ([3-amino-4-(5-methyl-2-furyl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-*b*]quinoline-2-yl](phenyl)methanone) showed a high level of analgesic activity (2 times more effective than metamizole sodium).

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

Выявленные нами в эксперименте на животных отчетливо выраженные антиноцицептивные свойства у образца-лидера – тиенопиридина AZ420 сопоставимы с полученными ранее результатами виртуального биоскрининга. Следует отметить, что потенциально это биологически активное соединение способно влиять на активность серин-треонин протеинкиназы, фосфолипазы A2, арахидонат-5-липоксигеназы и бета-секретазы.

Отобранный из обширной библиотеки лаборатории «Химэкс» новых органических соединений образец с лабораторным шифром AZ331 может связываться с коллагеназой-3, фосфолипазой A2, арахидонат-5-липоксигеназой и эндотелиальными рецепторами типа ET-A и ET-B. Это коррелирует с полученными нами данными относительно высокой анальгетической активности.

Третьим образцом-лидером в проведенном исследовании является новое производное 1,4-дигидропиридина с лабораторным шифром AZ383. Это соединение по результатам предикторного анализа потенциально имеет возможность связываться с арахидонат-5-липоксигеназой, воздействовать на аденозиновые рецепторы A1 и A2B и ЦОГ-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования, проведенные *in vivo* в тесте тепловой иммерсии хвоста для

десяти новых производных тиенопиридина и 1,4-дигидропиридина, показали наличие максимально отчетливо выраженных антиноцицептивных свойств при применении их в дозе 5 мг/кг у трех нижеприведенных соединений:

- AZ420 (5-циано-4-(2-фурил)-N-(2-метоксифенил)-6-({2-[(3-метоксифенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид) (эффективнее метамизола натрия в 3 раза);

- AZ331 (5-циано-4-(2-фурил)-N-(2-метоксифенил)-6-{{2-(4-метоксифенил)-2-оксоэтил}тио}-2-метил-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид) (эффективнее метамизола натрия в 2.21 раза);

- AZ383 (5-циано-6-({2-[(4-этоксифенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-4-(2-фурил)-2-метил-N-(2-метилфенил)-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид) (эффективнее метамизола натрия в 3.37 раза).

Также достаточно высокую болеутоляющую активность проявляет новое производное тиенопиридина с шифром AZ023 ([3-амино-4-(5-метил-2-фурил)-5,6,7,8-тетрагидропиридино[2,3-*b*]хиолин-2-ил](фенил)метанон) (эффективнее метамизола натрия в 2 раза).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dahlhamer J., Lucas J., Zelaya C. et al. Prevalence of chronic pain and high-impact chronic pain among adults – United States, 2016 // *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2018;67(36):1001-1006. DOI: 10.15585/mmwr.mm6736a2.
2. Finnerup N.B., Haroutounian S., Baron R. et al. Neuropathic pain clinical trials: factors associated with decreases in estimated drug efficacy // *Pain.* 2018;159(11):2339-2346. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001340.
3. Пахомова И.Г., Кучмин А.Н., Павлова Е.Ю. Нестероидные противовоспалительные препараты при острой боли: консенсус эффективности и безопасности // *Русский медицинский журнал.* 2017;25(21):1537-1542.
4. Monaghan J., Adams N., Fothergill M. An evaluation of a pain education programme for physiotherapists in clinical practice // *Musculoskeletal Care.* 2018;16(1):103-111. DOI: 10.1002/msc.1218.
5. Флейшер Г.М. Анальгетическое действие Кеторола® при болевом синдроме в стоматологической практике // *Стоматолог-практик.* 2014;2:40-42.
6. Шень Н.П., Логвиненко В.В., Мухачева С.Ю. Нимесулид в лечении и профилактике болевого синдрома различного генеза // *Амбулаторная хирургия.* 2017;3-4:75-81.

REFERENCES

1. Dahlhamer J., Lucas J., Zelaya C. Prevalence of chronic pain and high-impact chronic pain among adults – United States, 2016. *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2018;67(36):1001-1006. DOI: 10.15585/mmwr.mm6736a2.
2. Finnerup N.B., Haroutounian S., Baron R. Neuropathic pain clinical trials: factors associated with decreases in estimated drug efficacy. *Pain.* 2018;159(11):2339-2346. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001340.
3. Pakhomova I.G., Kuchmin A.N., Pavlova E.Yu. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in acute pain: consensus on efficacy and safety. *Russian Medical Journal.* 2017;25(21):1537-1542. (In Russ.)
4. Monaghan J., Adams N., Fothergill M. An evaluation of a pain education programme for physiotherapists in clinical practice. *Musculoskeletal Care.* 2018;16(1):103-111. DOI: 10.1002/msc.1218.
5. Fleisher G.M. Analgesic effect of Ketorol® in pain syndrome in dental practice. *Dentist-practitioner.* 2014;2:40-42. (In Russ.)
6. Shen N.P., Logvinenko V.V., Mukhacheva S.Yu. Nimesulid: treatment and prevention of pain syndrome of various origins. *Ambulatory Surgery (Russia).* 2017;3-4:75-81. (In Russ.)
7. Shopabaeva A.R., Serikbaeva E.A., Lataeva E. The role of painkillers: on the way to overcome the pain. *Vestnik KazNMU.* 2017;4:257-258. (In Russ.)

7. Шопабаяева А.Р., Серикбаяева Э.А., Латаева Э.Х. Роль обезболивающих препаратов: на пути к преодолению боли // Вестник КазНМУ. 2017;4:257-258.
8. Вейсгейм Л.Д., Дубачева С.М., Гаврикова Л.М. Комплексное купирование болевого синдрома в периоде адаптации после стоматологического лечения // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016;4(2):365-367.
9. Лесная О.А., Русанова Е.И., Прокофьева Е.Б., Фрейре да Сильва Т. Рациональное применение НПВП в свете клинических рекомендаций и данных новых исследований // Трудный пациент. 2019;17(10):31-34. DOI: 10.24411/2074-1995-2019-10072.
10. Доценко В.В., Кривоколыско С.Г., Кривоколыско Б.С., Фролов К.А. Новый подход к синтезу функциональных производных 3-(4-пиридинил)-1H-индола и 4-(1H-индол-3-ил)тиено[2,3-*b*]пиридина // Журнал общей химии (РАН). 2018;88(4):599-605.
11. Mishra A.P., Bajpai A., Rai A.K. 1,4-Dihydropyridine: a dependable heterocyclic ring with the promising and the most anticipable therapeutic effects // Mini Rev. Med. Chem. 2019;19(15):1219-1254. DOI: 10.2174/1389557519666190425184749.
12. Rucins M., Plotniece A., Bernotiene E. et al. Recent approaches to chiral 1,4-dihydropyridines and their fused analogues // Catalysts. 2020;10(9):1019. DOI: 10.3390/catal10091019.
13. Dotsenko V.V., Buryi D.S., Lukina D.Yu., Krivokolysko S.G. Recent advances in the chemistry of thieno[2,3-*b*]pyridines 1. Methods of synthesis of thieno[2,3-*b*]pyridines // Russian Chemical Bulletin. 2020;69(10):1829-1858. DOI: 10.1007/s11172-020-2969-2.
14. Ling Y., Hao Z.Y., Liang D. et al. The expanding role of pyridine and dihydropyridine scaffolds in drug design // Drug Des. Devel. Ther. 2021;15:4289-4338. DOI: 10.2147/DDDT.S329547.
15. Khan M.M., Khan S., Iqbal S. Recent developments in multicomponent synthesis of structurally diversified tetrahydropyridines // RSC Adv. 2016;6(48):42045-42061. DOI: 10.1039/C6RA06767K.
16. Bibik I.V., Bibik E.Yu., Dotsenko V.V. et al. Synthesis and analgesic activity of new heterocyclic cyanothioacetamide derivatives // Russian Journal of General Chemistry. 2021;91(2):154-166. DOI: 10.1134/S107036322102002X.
17. Krivokolysko D.S., Dotsenko V.V., Bibik E.Yu. et al. New 4-(2-furyl)-1,4-dihydronicotinonitriles and 1,4,5,6-tetrahydronicotinonitriles: synthesis, structure, and analgesic activity // Russian Journal of General Chemistry. 2021;91(9):1646-1660. DOI: 10.1134/S1070363221090073.
18. Khot S., Auti P.B., Khedkar S.A. Diversified synthetic pathway of 1,4-dihydropyridines: a class of pharmacologically important molecules // Mini Rev. Med. Chem. 2021;21(2):135-149. DOI: 10.2174/1389557520666200807130215.
19. Биби́к Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В. и др. Изучение адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина // Бюллетень сибирской медицины. 2019;18(3):21-
8. Weisgeim L.D., Dubacheva S.M., Gavrikova L.M. Complex relief of pain in the period of adaptation after dental treatment. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016;4(2):365-367. (In Russ.)
9. Lesnaya O.A., Rusanova E.I., Prokofieva E.B., Freire da Silva T. Rational use of NSAIDs according to clinical guidelines and data from recent studies. *Difficult Patient*. 2019;17(10):31-34. DOI: 10.24411/2074-1995-2019-10072.
10. Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G., Krivokolysko B.S., Frolov K.A. A new approach to the synthesis of functional derivatives of 3-(4-pyridinyl)-1H-indole and 4-(1H-indol-3-yl)thieno[2,3-*b*]pyridine. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(4):682-688. DOI: 10.1134/S1070363218040114.
11. Mishra A.P., Bajpai A., Rai A.K. 1,4-Dihydropyridine: a dependable heterocyclic ring with the promising and the most anticipable therapeutic effects. *Mini Rev. Med. Chem*. 2019;19(15):1219-1254. DOI: 10.2174/1389557519666190425184749.
12. Rucins M., Plotniece A., Bernotiene E. Recent approaches to chiral 1,4-dihydropyridines and their fused analogues. *Catalysts*. 2020;10(9):1019. DOI: 10.3390/catal10091019.
13. Dotsenko V.V., Buryi D.S., Lukina D.Yu., Krivokolysko S.G. Recent advances in the chemistry of thieno[2,3-*b*]pyridines 1. Methods of synthesis of thieno[2,3-*b*]pyridines. *Russian Chemical Bulletin*. 2020;69(10):1829-1858. DOI: 10.1007/s11172-020-2969-2.
14. Ling Y., Hao Z.Y., Liang D. The expanding role of pyridine and dihydropyridine scaffolds in drug design. *Drug Des. Devel. Ther*. 2021;15:4289-4338. DOI: 10.2147/DDDT.S329547.
15. Khan M.M., Khan S., Iqbal S. Recent developments in multicomponent synthesis of structurally diversified tetrahydropyridines. *RSC Adv*. 2016;6(48):42045-42061. DOI: 10.1039/C6RA06767K.
16. Bibik I.V., Bibik E.Yu., Dotsenko V.V. Synthesis and analgesic activity of new heterocyclic cyanothioacetamide derivatives. *Russian Journal of General Chemistry*. 2021;91(2):154-166. DOI: 10.1134/S107036322102002X.
17. Krivokolysko D.S., Dotsenko V.V., Bibik E.Yu. New 4-(2-furyl)-1,4-dihydronicotinonitriles and 1,4,5,6-tetrahydronicotinonitriles: synthesis, structure, and analgesic activity. *Russian Journal of General Chemistry*. 2021;91(9):1646-1660. DOI: 10.1134/S1070363221090073.
18. Khot S., Auti P.B., Khedkar S.A. Diversified synthetic pathway of 1,4-dihydropyridines: a class of pharmacologically important molecules. *Mini Rev. Med. Chem*. 2021;21(2):135-149. DOI: 10.2174/1389557520666200807130215.
19. Bibik E.Yu., Nekrasa I.A., Demenko A.V. et al. Studying the adaptogenic activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-*b*][1,3,5]thiadiazine derivatives. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(3):21-28. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28. (In Russ.)
20. Gfeller D., Grosdidier A., Wirth M. Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Res*. 2014;42:W32-W38. DOI: 10.1093/nar/gku293.
21. PASS Online. URL: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php> (accessed 06.03.2023).

28. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28.
20. Gfeller D., Grosdidier A., Wirth M. et al. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules // *Nucleic Acids Res.* 2014;42:W32-W38. DOI: 10.1093/nar/gku293.
21. PASS Online. URL: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php> (дата обращения: 06.03.2023).
22. OSIRIS Property Explorer. URL: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/> (дата обращения: 06.03.2023).
23. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. Ч. 1. 944 с.
24. Агаянц И.М. Азы статистики в мире химии: Обработка экспериментальных данных. СПб.: NOT, 2015. 614 с.
22. OSIRIS Property Explorer. URL: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/> (accessed 03.06.2023).
23. *Guidelines for Preclinical Studies of Drugs* (2012). Moscow: Grif i K. Pt. 1. 944 p. (In Russ.)
24. Agayants I.M. (2015). *The Basics of Statistics in the World of Chemistry: Processing Experimental Data*. St. Petersburg: NOT. 614 p. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Igor V. Bibik – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Surgical Dentistry, St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russia. ORCID: 0000-0003-4053-1431.

Konstantin A. Frolov – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, St. Luka Lugansk State Medical University; Chief Engineer, Chemex Research Laboratory, Vladimir Dahl Lugansk State University, Lugansk, Russia.

Viktor V. Dotsenko – Dr. Sci. (Chem.), Associate Professor, Head, Department of Organic Chemistry and Technology, Kuban State University, Krasnodar, Russia; Leading Researcher, Chemex Research Laboratory, Vladimir Dahl Lugansk State University, Lugansk, Russia.

Sergey G. Krivokolysko – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, St. Luka Lugansk State Medical University; Head, Chemex Research Laboratory, Vladimir Dahl Lugansk State University, Lugansk, Russia. ORCID: 0000-0001-9879-9217.

Elena Yu. Bibik – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russia. ORCID: 0000-0002-2622-186X.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бибик Игорь Валерьевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры хирургической стоматологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», Луганск, Россия. ORCID: 0000-0003-4053-1431.

Фролов Константин Александрович – канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»; главный инженер научно-исследовательской лаборатории «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет им. Владимира Даля», Луганск, Россия.

Доценко Виктор Викторович – д-р хим. наук, доцент, заведующий кафедрой органической химии и технологий ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», Краснодар, Россия; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет им. Владимира Даля», Луганск, Россия.

Кривоколыско Сергей Геннадиевич – д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»; заведующий научно-исследовательской лабораторией «Химэкс» ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный университет им. Владимира Даля», Луганск, Россия. ORCID: 0000-0001-9879-9217.

Бибик Елена Юрьевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», Луганск, Россия. ORCID: 0000-0002-2622-186X.

Сравнительный анализ фармакотехнологических характеристик твердых дисперсий албендазола, полученных механохимическим твердофазным синтезом

Ю.И. Тихомирова¹, Н.О. Карабинцева¹, Е.С. Метелева², В.И. Евсеенко², А.В. Душкин², М.В. Зеликман²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . Албендазол – антипротозойный и антигельминтный препарат широкого спектра действия, обладающий также противоописторхозным действием. В настоящее время актуальной становится проблема повышения биодоступности албендазола для лечения системных гельминтозов и паразитозов. Одним из путей улучшения всасываемости албендазола становится повышение его растворимости в воде за счет образования межмолекулярных комплексов с полисахаридом арабиногалактаном при механической обработке их смесей в условиях интенсивных механических воздействий. Твердая дисперсия албендазола с арабиногалактаном, полученная механохимическим методом, имеет более высокую водорастворимость, а также проявляет повышенную антигельминтную, в том числе противоописторхозную, фармакологическую активность, не вызывая токсического действия на клетки печени, по сравнению с официальными препаратами албендазола.

Ц е л ь . Изучение физико-химических и технологических характеристик твердых дисперсий албендазола с арабиногалактаном, полученных механохимическим способом.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Смесь субстанций албендазола и арабиногалактана подвергали механической обработке в шаровых мельницах для получения твердых дисперсий, в массовых соотношениях 1:5, 1:10, 1:20, продолжительность механической обработки составляла 2, 8 и 24 ч соответственно. Форму и размер частиц исходных субстанций и полученных твердых дисперсий определяли методами оптической и электронной сканирующей микроскопии. Фракционный состав крупных фракций твердых дисперсий определяли методом ситового анализа, оценку мелкодисперсной фракции проводили с помощью метода динамического анализа изображений сыпучих материалов. Определение технологических характеристик проводили с помощью общепринятых фармакопейных методик.

Р е з у л ь т а т ы . В процессе исследования были получены экспериментальные данные о физических (форма и размер частиц, фракционный состав) и фармакотехнологических свойствах (сыпучесть порошков, насыпная плотность и плотность порошков после усадки, индексы Хауснера и Карра) албендазола и арабиногалактана, а также их твердых дисперсий, полученных механохимическим твердофазным синтезом.

З а к л ю ч е н и е . По результатам исследования определен образец твердой дисперсии албендазола и арабиногалактана (соотношение – 1:5, время механообработки – 2 ч) с оптимальными физико-химическими и технологическими свойствами для дальнейшего использования его в технологии получения пероральной лекарственной формы. Выявленные достаточно низкие технологические показатели остальных исследуемых твердых дисперсий албендазола с арабиногалактаном определяют необходимость подбора оптимального состава вспомогательных веществ в ходе дальнейшей фармацевтической разработки.

Ключевые слова: албендазол, арабиногалактан, твердые дисперсии, механохимический метод, электронная микроскопия, фракционный состав.

Образец цитирования: Тихомирова Ю.И., Карабинцева Н.О., Метелева Е.С., Евсеенко В.И., Душкин А.В., Зеликман М.В. Сравнительный анализ фармакотехнологических характеристик твердых дисперсий албендазола, полученных механохимическим твердофазным синтезом // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):35-49. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-35-49

Поступила в редакцию 27.04.2023
Прошла рецензирование 04.05.2023
Принята к публикации 24.05.2023

Автор, ответственный за переписку
Тихомирова Юлия Игоревна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: yulya.tikhomirova.93@bk.ru

Received 27.04.2023
Revised 04.05.2023
Accepted 24.05.2023

Corresponding author
Yulia I. Tikhomirova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: yulya.tikhomirova.93@bk.ru

A comparative analysis of pharmacotechnological characteristics of albendazole solid dispersions obtained by mechanochemical solid-phase synthesis

Yu.I. Tikhomirova¹, N.O. Karabintseva¹, E.S. Meteleva², V.I. Evseenko², A.V. Dushkin², M.V. Zelikman²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Albendazole is a broad-spectrum antiprotozoal and antihelminthic drug which also has an anti-opisthorchiasis effect. Currently, the problem of increasing the bioavailability of albendazole for the treatment of systemic helminthiasis and parasitosis is becoming urgent. One way to improve the absorption of albendazole is to increase its water solubility due to the formation of intermolecular complexes with arabinogalactan, a plant polysaccharide during mechanical treatment of their mixtures under intense mechanical treatment. The solid dispersion of albendazole with arabinogalactan, obtained by the mechanochemical method, has higher water solubility, and also increased antihelminthic, including against *Opisthorchis* spp. infection, pharmacological activity, without toxic effect on liver cells, compared with the official preparations of albendazole.

A i m . The study of physicochemical and technological characteristics of solid dispersions of albendazole with arabinogalactan obtained by the mechanochemical method.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A mixture of albendazole and arabinogalactan substances was ball milled to obtain solid dispersions, in a ratio of 1:5, 1:10, 1:20; the duration of mechanical treatment was 2, 8 and 24 hours. The shape and particle size of the parent substances and the obtained solid dispersions were determined by light and scanning electron microscopy. The particle size distribution of coarse fractions of solid dispersions was determined by sieve analysis, fine fractions – by dynamic image analysis of bulk materials. The determination of technological characteristics was performed using conventional pharmacopoeial methods.

R e s u l t s . During the study, experimental data were collected on the physical (shape and size of particles, particle size distribution) and pharmacotechnological properties (powder flowability, bulk density and tapped density of powders, Hausner's ratio and Carr's index) of albendazole and arabinogalactan, as well as their solid dispersions obtained by mechanochemical solid-phase synthesis.

C o n c l u s i o n . According to the results of the study, a sample of solid dispersion of albendazole and arabinogalactan (ratio 1:5, mechanical treatment time 2 hours) with appropriate physicochemical and technological properties was determined for use in the technology of further oral dosage form obtaining. The revealed rather low technological parameters of the rest solid dispersions of albendazole with arabinogalactan determine the need to select the optimal composition of excipients during further pharmaceutical development.

Keywords: albendazole, arabinogalactan, solid dispersions, mechanochemical method, electron microscopy, particle size distribution.

Citation example: Tikhomirova Yu.I., Karabintseva N.O., Meteleva E.S., Evseenko V.I., Dushkin A.V., Zelikman M.V. A comparative analysis of pharmacotechnological characteristics of albendazole solid dispersions obtained by mechanochemical solid-phase synthesis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):35-49. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-35-49

ВВЕДЕНИЕ

Албендазол (АБЗ) – антипротозойный и антигельминтный препарат широкого спектра действия группы бензимидазолакарбомата (рис. 1). Он проявляет активность в отношении как кишечных, так и тканевых форм паразитов; быстро метаболизируется в печени при первичном прохождении с образованием метаболита – албендазола сульфата, который является основным эффективным веществом при лечении тка-

INTRODUCTION

Albendazole (ABZ) is a broad-spectrum antiprotozoal and antihelminthic drug of the benzimidazole carbamate group (Fig. 1). It is active against both intestinal and tissue forms of parasites; it is rapidly metabolized in the liver during initial passage with the formation of a metabolite – albendazole sulfate, which is the main effective substance in the treatment of tissue infections. Because ABZ in oral administration is absorbed poorly (<5%) [1], and in the

невых инфекций. В связи с тем, что при пероральном приеме АБЗ абсорбируется очень слабо (<5 %) [1], а при лечении системных гельминтных инвазий, таких как эхинококкоз и нейроцистицеркоз, предполагается продолжительное лечение высокими дозами АБЗ на ранних стадиях этих заболеваний, возможно значительное повышение риска развития нежелательных побочных явлений [2, 3].

Кроме того, АБЗ является эффективным противоописторхозным средством, применяющимся для лечения острой и хронической форм заболевания. По сравнению с празиквантелом, поставки которого в Российскую Федерацию ограничены, данный препарат менее эффективен [2, 4, 5]. Поскольку АБЗ становится альтернативным средством для лечения описторхоза в условиях дефицита празиквантела, актуальной становится проблема повышения биодоступности АБЗ для лечения системных гельминтозов и паразитозов.

Одним из путей улучшения всасываемости АБЗ за счет повышения его растворимости в воде является способ, предложенный ранее в НИИ химии твердого тела и механохимии СО РАН, который заключается в образовании межмолекулярных комплексов с полисахаридом арабиногалактаном (АГ), при механической обработке их смесей в условиях интенсивных механических воздействий [6–8]. Установлено, что твердая дисперсия (ТД) АБЗ с арабиногалактаном, полученная механохимическим методом, имеет более высокую водорастворимость, а также проявляет повышенную противоописторхозную фармакологическую активность, не вызывая токсического действия на клетки печени, по сравнению с исходной субстанцией АБЗ [9, 10].

Выбор АГ в качестве носителя обусловлен особенностями его химического строения как галактансодержащего полисахарида, который обладает высокой растворимостью в воде, уникально низкой вязкостью растворов, невысоким молекулярно-массовым распределением, а также проявляет свойства пребиотика и является био-разлагаемым [4, 11]. Существенным преимуществом арабиногалактана перед другими биологически активными полисахаридами является его доступность [11].

Для дальнейшей разработки состава и технологии получения лекарственной формы для перорального применения на основе твердых дисперсий АБЗ с АГ необходимо провести сравнительный анализ физико-химических и технологических характеристик твердых дисперсий. Результаты исследования продемонстрируют

treatment of systemic helminthic invasions, such as echinococcosis and neurocysticercosis, the long-term therapy with high doses of ABZ in the early stages of these diseases is assumed, a significant increase in the risk of undesirable side effects is possible [2, 3].

In addition, ABZ is an effective agent for treatment of acute and chronic forms of opisthorchiasis. Compared with praziquantel, whose supplies to the Russian Federation are limited, this drug is less effective [2, 4, 5]. Since ABZ becomes an alternative for the treatment of opisthorchiasis in conditions of praziquantel shortage, the problem of increasing the bioavailability of ABZ in systemic helminthiasis and parasitosis therapy becomes relevant.

One way to improve the absorption of ABZ by increasing its water solubility is the method proposed previously at the Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, which consists in the formation of intermolecular complexes with arabinogalactan (AG), a plant polysaccharide during mechanical treatment of their mixtures under the intense mechanical treatment [6–8]. It was found that the solid dispersion (SD) of ABZ with arabinogalactan obtained by the mechanochemical method has higher water solubility, and also increased pharmacological activity against *Opisthorchis* spp. infection, without toxic effect on liver cells, compared with the official preparations of ABZ [9, 10].

The choice of AG as a carrier is conditioned by peculiarities of its chemical structure as a galactan-containing polysaccharide, which has a high water solubility, an extraordinary low viscosity of solutions, a low molecular mass distribution, and also exhibits prebiotic properties and is biodegradable [4, 11]. A significant advantage of arabinogalactan over other biologically active polysaccharides is its availability [11].

For further development of the composition and technology of obtaining an oral dosage form based on solid dispersions of ABZ with AG, it is necessary to carry out a comparative analysis of the physico-chemical and technological characteristics of solid dispersions. The results of the study will show the nature of the influence of the mechanochemical effect on the properties of ABZ and will allow determining the appropriate drug-to-carrier mixture ratio and the time of mechanochemical treatment.

AIM OF THE RESEARCH

Study of physico-chemical and technological characteristics of solid dispersions of albendazole with arabinogalactan obtained by the mechanochemical method.

характер влияния механохимического воздействия на свойства АБЗ и позволят определить оптимальные параметры массового соотношения лекарственного вещества к носителю и время механохимической обработки.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение физико-химических и технологических характеристик твердых дисперсий албендазола с арабиногалактаном, полученных механохимическим способом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали активную фармацевтическую субстанцию (АФС) албендазола (Wuhan Dasen Biotechnology Co., Ltd., Китай). АБЗ представляет собой белый или беловатый порошок. Растворим в диметилсульфоксиде, сильных кислотах и щелочах, плохо растворим в метиловом спирте, хлороформе, уксусноэтиловом эфире, практически не растворим в воде. Данные по растворимости позволяют отнести субстанцию ко II классу биофармацевтической классификационной системы.

В качестве вспомогательного вещества-носителя использовали арабиногалактан, субстанция – порошок, с содержанием АГ 96.2 % (АО «Аметис», ТУ 9325-008-70692 152-08). Полисахарид, получаемый из древесины лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина [11]. Для макромолекулы АГ характерно высоко разветвленное строение; главная цепь состоит из звеньев галактозы, боковые цепи – из звеньев арабинозы и галактозы (см. рис. 1). Эта структурная особенность способствует образованию прочных межмолекулярных комплексов с лекарственными препаратами, а также обуславливает избирательное проникновение через мембранные барьеры, благодаря чему арабиногалактан можно использовать для повышения всасываемости других лекарственных средств, характеризующихся низкой биодоступностью [4, 6, 7, 9–13].

Субстанция АГ представляет собой аморфный порошок, светло-коричневого цвета, без запаха, имеет сладковатый вкус. Растворим в холодной воде (5 г/100 мл), при нагревании растворимость возрастает [11].

Для получения твердых дисперсий использовали механохимическую обработку сухих образцов АБЗ и АГ в пропорции 1:5, 1:10 и 1:20 соответственно. Механообработка смеси проводилась с применением ротационной (валковой) мельницы ВМ-1. В качестве мелющих тел использовались стальные шары (марка стали

MATERIALS AND METHODS

An active pharmaceutical substance (APS) of albendazole (Wuhan Dasen Biotechnology Co., Ltd., China) was used in the study. ABZ is a white or whitish powder. It is soluble in dimethyl sulfoxide, strong acids and alkalis, poorly soluble in methyl alcohol, chloroform, ethyl acetate, virtually water insoluble. Solubility data allow the substance to be assigned to Class II of the biopharmaceutical classification system.

Arabinogalactan, a powder with AG content of 96.2%, was used as an auxiliary carrier (Ametis JSC, Technical Conditions 9325-008-70692 152-08). Arabinogalactan is a plant polysaccharide obtained from Siberian larch and Dahurian larch wood [11]. A highly branched structure characterizes the AG macromolecule; the main chain consists of galactose units, the side chains consist of arabinose and galactose units (Fig. 1). This structural feature contributes to the formation of strong intermolecular complexes with drugs, and also conditions selective penetration through membrane barriers, so that arabinogalactan can increase the absorption of other drugs with low bioavailability [4, 6, 7, 9–13].

The substance of AG is an amorphous powder, light brown, odorless, with a sweet taste. It is soluble in cold water (5 g / 100 ml). When heated, the solubility increases [11].

To obtain solid dispersions, mechanochemical treatment of dry ABZ and AG samples was used in a ratio of 1:5, 1:10 and 1:20. The mechanical treatment of the mixture was carried out using a rotary ВМ-1 mill. Steel balls (steel ShX-15) with a diameter of 15 mm, and loading of balls 675 g were used as a grinding medium. The duration of mechanical treatment was 2, 8 and 24 hours. The samples of solid dispersions obtained by mechanochemical synthesis were fine powders, light beige in color, odorless, during storage forming lumps that disintegrate on grinding.

The determination of the technological properties of ABZ, AG and their solid dispersions was performed in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia, XIV ed.: description, sieve analysis, flowability of powders, bulk density, compressibility.

The determination of the shape and sizes of particles of the parent substances and their solid dispersions was performed by light microscopy using a Micmed-1 version 2 microscope (LOMO JSC, Russia) and by scanning electron microscopy using a TM-1000 microscope (Hitachi, Japan).

To determine the particle size distribution of the parent substances and their solid dispersions, a sieve

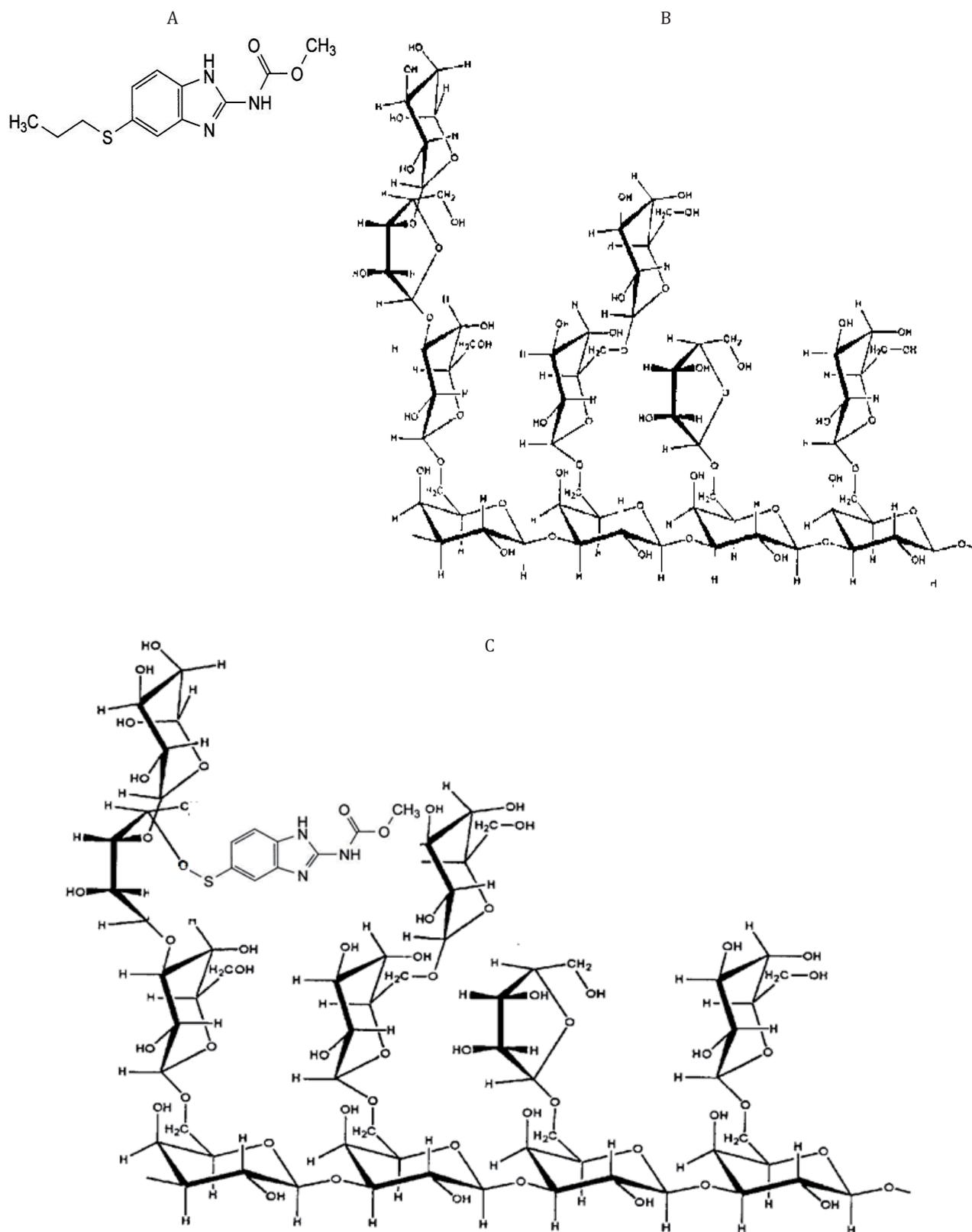


Рис. 1. Структурные формулы: А – албендазола; В – арабиногалактана; С – албендазола и арабиногалактана (предполагаемая структура)
Fig. 1. Structural formulas: A – albendazole; B – arabinogalactan; C – albendazole and arabinogalactan (putative structure)

ШХ-15) диаметром 15 мм, загрузка шаров 675 г. Продолжительность механической обработки составляла 2, 8 и 24 ч. Полученные механохимическим синтезом образцы твердых дисперсий представляли собой мелкодисперсные порошки, светло-бежевого цвета, без запаха, при хранении образующие комки, распадающиеся при их растирании.

Определение технологических свойств АБЗ, АГ и их твердых дисперсий проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV издания: описание, ситовой анализ, степень сыпучести порошков, насыпная плотность, прессуемость.

Определение формы и размеров частиц исходных субстанций и их твердых дисперсий производили методом оптической микроскопии с помощью оптического микроскопа Микмед-1 вариант 2 (АО «ЛОМО», Россия) и методом электронной сканирующей микроскопии с помощью микроскопа ТМ-1000 (Hitachi, Япония).

Для определения фракционного состава исходных веществ и твердых дисперсий был проведен ситовой анализ в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) 1.1.0015.15 «Ситовой анализ». Распределение размеров частиц мелкодисперсной фракции было измерено отдельно с помощью анализатора размера и формы частиц Camsizer X2 (Microtrac MRB). Для этого использован метод динамического анализа изображений сыпучих образцов. Этим методом получена характеристика, называемая внутренней шири-

analysis was carried out in accordance with the general pharmacopoeial monograph (GPM) 1.1.0015.15 Sieve Analysis. The particle size distribution of the fine fraction was measured using a Camsizer X2 particle analyzer (Microtrac MRB). For this purpose, the method of dynamic image analysis of bulk samples was used. This method allowed to obtain a characteristic called the internal particle width ($x_{c\min}$, μm). It is equal to the smallest of all the maximal chords of the particle projection. The dependence diagram of $x_{c\min}$ and its frequency distribution in relation to the volume $q_3(x)$ is presented (Fig. 2):

$$q_3(x) = dQ_3(x) / dx,$$

where $dQ_3(x)$ is the total distribution (percentage of passage), in relation to volume.

This characteristic shows the sieve mesh size through which this particle is sifted, and thus, is consistent with the distribution measured by the sieve analysis method.

The determination of bulk density, flowability and slope angle was performed in accordance with the GPM.1.4.2.0016.15 Powders Flowability Grade [14].

Based on the values of bulk density, the Hausner's ratio and the Carr's index were calculated, by the values of which flowability and compressibility are assessed (Table 1). The reference value of the Hausner's ratio should not exceed 1.36, and the Carr's index is allowable up to 26% [15].

Formulas for calculating:

$$\text{Hausner's ratio } (H): H = \rho_t / \rho;$$

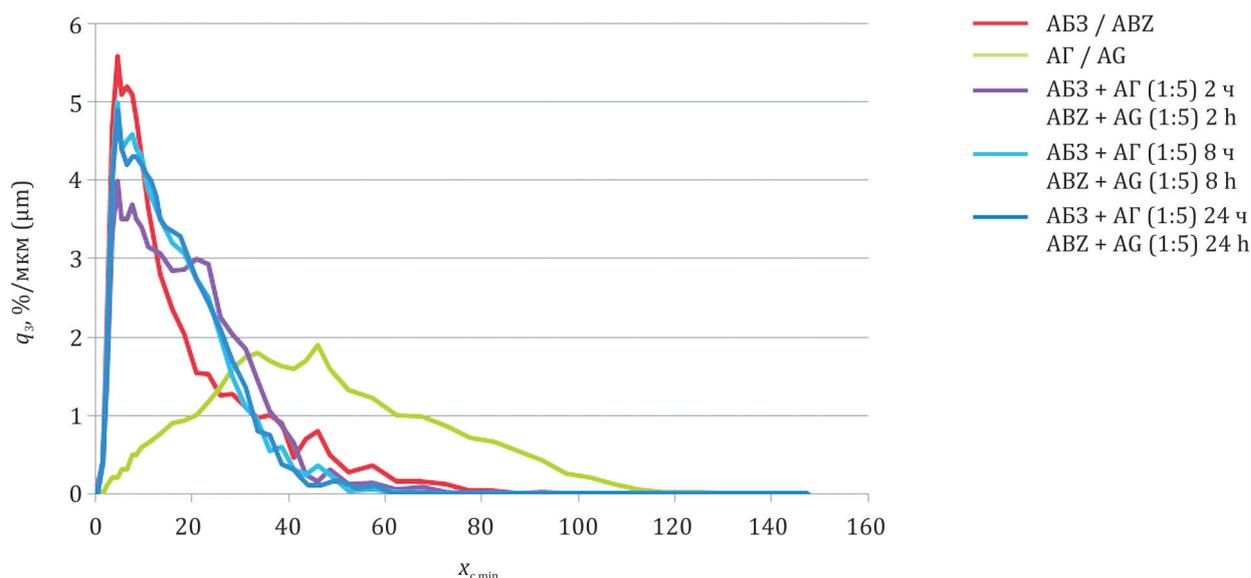


Рис. 2. Диаграмма зависимости $x_{c\min}$ и ее частотное распределение в отношении к объему q_3 для албендазола (АБЗ) и арабиногалактана (АГ) и их твердых дисперсий в соотношении 1:5 с разным временем механообработки
Fig. 2. The dependence diagram of $x_{c\min}$ and its frequency distribution in relation to q_3 volume for albendazole (ABZ) and arabinogalactan (AG) and their solid dispersions in a ratio of 1:5 with different mechanical treatment time

Таблица 1. Оценка индексов Хауснера и Карра
Table 1. Estimation of the Hausner's ratio and Carr's index

Прессуемость / Compressibility	Индекс Хауснера / Hausner's ratio	Индекс Карра / Carr's index, %
Очень хорошая / Very high	1.00–1.11	10
Хорошая / High	1.12–1.18	11–15
Средняя / Medium	1.19–1.25	16–20
Удовлетворительная / Acceptable	1.26–1.34	21–25
Плохая / Low	1.35–1.45	26–31
Очень плохая / Very low	1.46–1.59	32–37
Очень-очень плохая / Very-very low	>1.60	>38

ной частицы ($x_{c\ min}$, мкм). Она равна наименьшей из всех максимальных хорд проекции частицы. Представлена диаграмма зависимости $x_{c\ min}$ и ее частотное распределение в отношении к объему $q_3(x)$ (рис. 2):

$$q_3(x) = dQ_3(x) / dx,$$

где $dQ_3(x)$ – суммарное распределение (% прохождения), в отношении к объему.

Эта характеристика показывает размер ячейки сита, сквозь которое просеется данная частица, и, таким образом, согласуется с распределением, измеренным методом ситового анализа.

Определение насыпного объема, сыпучести и угла естественного откоса осуществляли в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» [14].

На основании значений насыпной плотности рассчитывали индекс Хауснера и индекс Карра, по величинам которых оценивают сыпучесть и сжимаемость (табл. 1). Значение индекса Хауснера не должно превышать 1.36, а индекс Карра считается приемлемым до значения 26 % [15].

Формулы расчета индексов:

$$\text{индекс Хауснера (H): } H = \rho_y / \rho;$$

$$\text{индекс Карра (C): } C = 100 \cdot (\rho_y - \rho) / \rho_y,$$

где ρ_y – насыпная плотность после уплотнения;

ρ – насыпная плотность до уплотнения.

Использовались методы первичной и вторичной статистической обработки данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным микроскопического исследования исходной субстанции АБЗ установлено, что частицы лекарственного вещества имеют неправильную, угловато-пластинчатую форму с острыми углами и неровной поверхностью, размеры составляют 10–30 мкм (рис. 3).

Микроскопическое исследование АГ до механической обработки показало, что основная масса его

Карра (C): $C = 100 \cdot (\rho_t - \rho) / \rho_t$,

where ρ_t is tapped density;

ρ is bulk density (baseline).

The methods of primary and secondary statistical data processing were used.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the results of microscopic examination of the parent substance of ABZ, it was found that the particles of the pharmaceutical substance have irregular, angular-laminar shape with sharp angles and uneven surface, the dimensions are being 10–30 μm (Fig. 3).

Microscopic examination of AG before mechanical treatment showed that the bulk of its particles have a regular spherical structure with a smooth surface and the voids of various sizes inside. The AG particle size ranges from 10 to 100 μm . The AG microscopic examination, namely the presence of spherical particles and voids between them, allowed us to suggest the prospects of using AG as a carrier and matrix for ABZ.

The comparative microscopic analysis of solid dispersions of ABZ with AG, which were obtained by solid-phase mechanochemical treatment in a BM-1 mill in a mass ratio of 1:5, 1:10, 1:20 during 2, 8 and 24 hours, showed a significant change in the shape and size of the initial particles. For particles of solid dispersions, the shape of polyhedra is characteristic; many projections, irregularities and roughness on the particle surface are observed, there is with a complication of the shape, as well as microparticle aggregation (Fig. 4).

The particle size of solid dispersions ranged from 5 to 30 μm . At the same time, the significant increase in the number of particles with a smaller size occurs in solid dispersions of ABZ and AG with a mass ratio 1:20 and a milling time of 24 hours.

When studying the size of particles of ABZ and AG and their solid dispersions, it was found that in the parent substance of ABZ, the largest mass con-

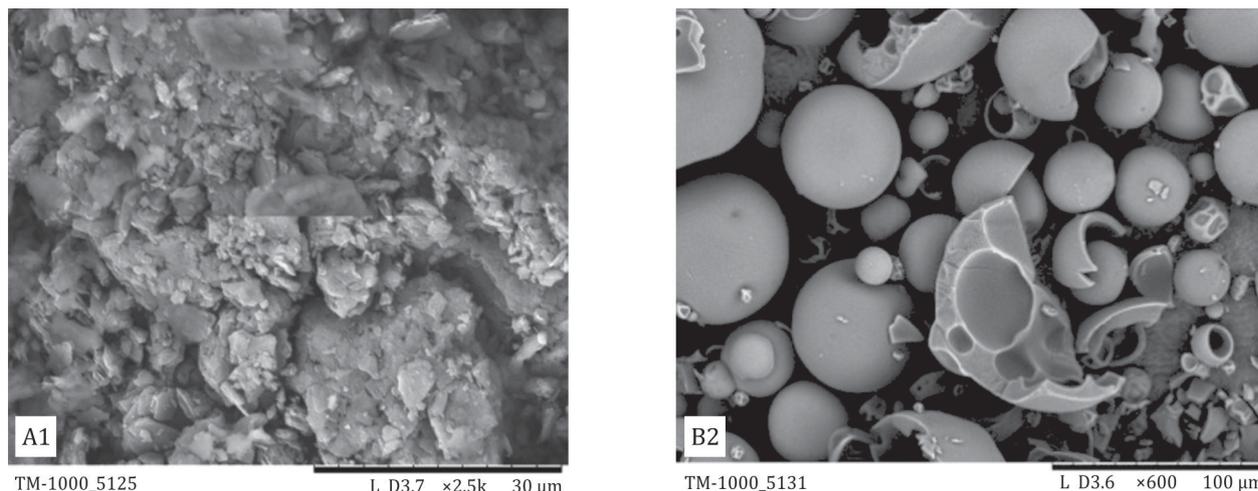


Рис. 3. Электронно-микроскопические фотографии исходной субстанции албендазола (A1) и арабиногалактана (B2). Увеличение (ув.) $\times 600$
Fig. 3. Electron microscopic images of the parent substance of albendazole (A1) and arabinogalactan (B2). Magnification (magn.) $\times 600$

частиц имеет правильную сферическую структуру с гладкой поверхностью и наличием внутри пустот различного размера. Размер частиц АГ составляет от 10 до 100 мкм. Результаты микроскопического исследования АГ, а именно наличие частиц сферической формы и пустот между ними, позволило предположить перспективы использования АГ в качестве носителя – матрицы для АБЗ.

Сравнительный микроскопический анализ твердых дисперсий АБЗ с АГ, которые получали путем твердофазной механохимической обработки в мельнице ВМ-1 в массовом соотношении 1:5, 1:10, 1:20 в течение 2, 8 и 24 ч соответственно, показал существенное изменение формы и размеров исходных частиц. Для частиц твердых дисперсий характерна форма многогранников, наблюдаются многочисленные выступы, неровности и шероховатости на поверхности частиц, происходит усложнение формы, а также явление агрегации микрочастиц (рис. 4).

Размер частиц твердых дисперсий составил от 5 до 30 мкм. При этом наблюдаемое значительное увеличение частиц с меньшим размером происходит в твердых дисперсиях с соотношением АБЗ и АГ 1:20 и временем механообработки 24 ч.

При изучении фракционного состава АБЗ и АГ и их твердых дисперсий установили, что в исходной субстанции АБЗ наибольшее массовое содержание частиц (66.65 %) составляла фракция с размером от 0.1 до 0.2 мм. В исходной суб-

станции (66.65%) была фракция с размером от 0.1 до 0.2 мм. В исходной субстанции АГ, в основном (62.39%) состояла из частиц с размером менее 0.1 мм.

As a result of milling, a change in the particle size occurs, and this process is influenced by both the ratio of the solid dispersion components and the time of mechanical treatment. When mechanically treating a mixture of ABZ and AG for 24 hours, the content of the fine fraction (less than 0.1 mm) on average increases to 50% of the total mass of the solid dispersion. In the mechanical treatment mode for 8 hours, a significant content of the fine fraction in relation to the total volume of the solid dispersion is also observed in the solid dispersion. In the sample of the dispersion of ABZ and AG in a ratio of 1:5 and mechanical treatment for 8 hours, an increase in the fraction of particle size less than 0.1 mm to 36% of the total mass was observed. The lowest content of the fine fraction was found for the solid dispersion of ABZ and AG (1:5) and the mechanical treatment time of 2 hours, that amounted to 7.52% of the total mass of the dispersion, which, of course, will certainly further result in the reduction of solid dispersion dusting and aggregation of microparticles with each other.

The mass content of an excipient influences the particle size of solid dispersions. The content of particles passing through a 0.1-mm-mesh-size sieve is: in the solid dispersion of ABZ + AG (1:10) and the mechanical treatment time of 2 hours – 29.73%, in the sample of ABZ + AG (1:20) and 2-hours mechanical treatment – 16.89% (Table 2).

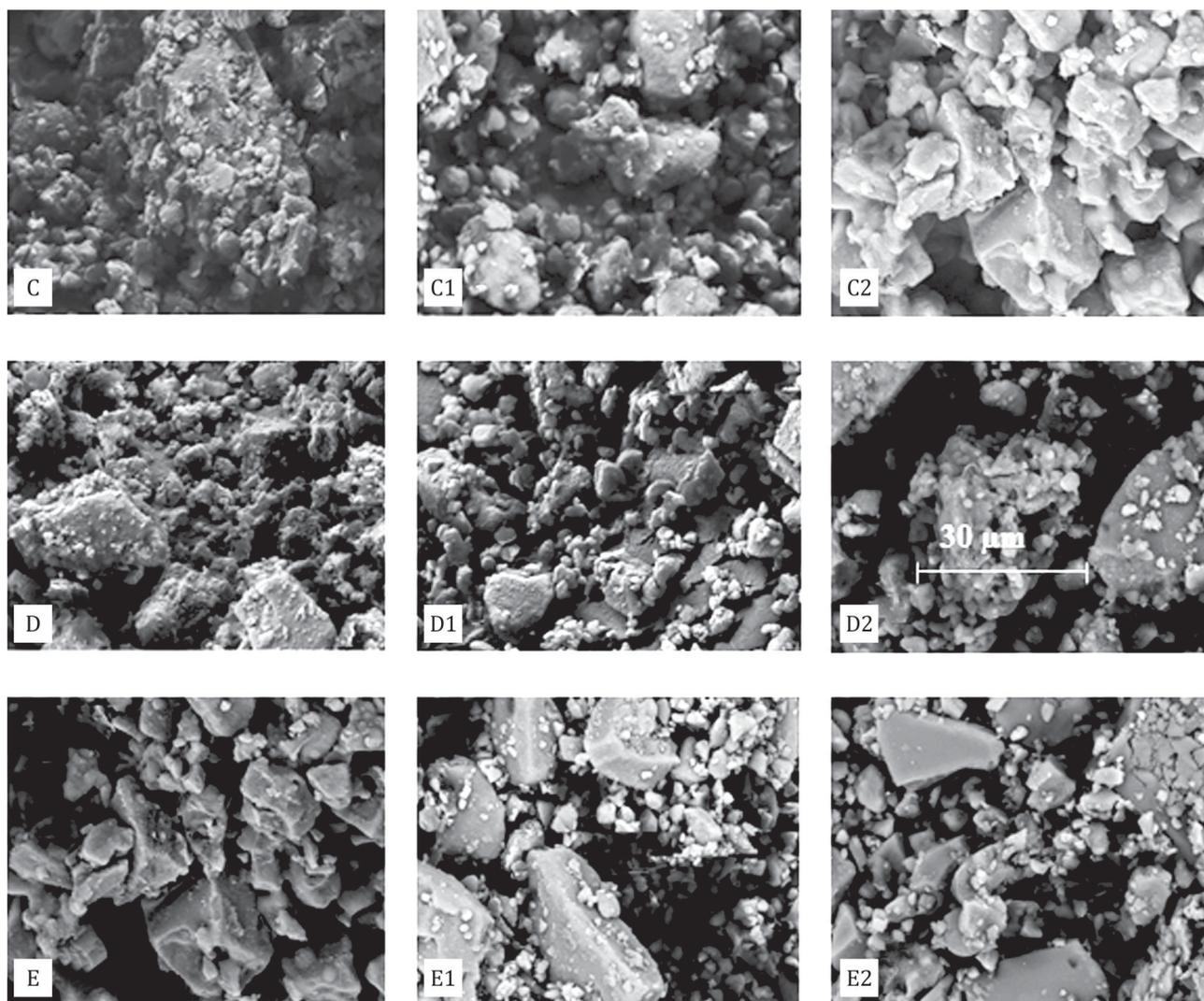


Рис. 4. Электронно-микроскопические фотографии твердых дисперсий албендазола (АБЗ) с арабиногалактаном (АГ) (С – АБЗ + АГ (1:5) 2 ч; С1 – АБЗ + АГ (1:5) 8 ч; С2 – АБЗ + АГ (1:5) 24 ч; D – АБЗ + АГ (1:10) 2 ч; D1 – АБЗ + АГ (1:10) 8 ч; D2 – АБЗ + АГ (1:10) 24 ч; E – АБЗ + АГ (1:20) 2 ч; E1 – АБЗ + АГ (1:20) 8 ч; E2 – АБЗ + АГ (1:20) 24 ч).
Ув. $\times 2500$

Fig. 4. Electron microscopic images of albendazole (ABZ) solid dispersions with arabinogalactan (AG) (C – ABZ + AG (1:5) 2 hours; C1 – ABZ + AG (1:5) 8 hours; C2 – ABZ + AG (1:5) 24 hours; D – ABZ + AG (1:10) 2 hours; D1 – ABZ + AG (1:10) 8 hours; D2 – ABZ + AG (1:10) 24 hours; E – ABZ + AG (1:20) 2 hours; E1 – ABZ + AG (1:20) 8 hours; E2 – ABZ + AG (1:20) 24 hours). Magn. $\times 2500$

станции АГ основную массу (62.39 %) составляли частицы с размером менее 0.1 мм.

В результате механического воздействия происходит изменение фракционного состава, причем на этот процесс влияют как соотношение компонентов твердой дисперсии, так и время механообработки. При механообработке смеси АБЗ и АГ в течение 24 ч содержание мелкодисперсной фракции (менее 0.1 мм) увеличивается в среднем до 50 % от общей массы твердой дисперсии. При режиме механообработки в течение 8 ч в твердой дисперсии также наблюдается значительное содержание мелкодисперсной фрак-

Due to the fact that the most monodisperse composition was detected for the solid dispersion obtained after 2 hours, then samples of solid dispersions with different ratios of ABZ and AG were compared, but obtained after 2 hours. The analysis results showed that in the solid dispersion with a mass ratio of ABZ to AG of 1:5, the bulk comprises particles with a size of 0.2–0.3 mm, whereas in samples with a ratio of 1:10 and 1:20, the higher content of the fine particle fraction with a size of less than 0.1 mm is observed.

When analyzing the composition of the fine particle fraction by the method of dynamic image anal-

Таблица 2. Результаты ситового анализа исходных субстанций албендазола и арабиногалактана и их твердых дисперсий**Table 2.** Results of the sieve analysis of the parent substances of albendazole and arabinogalactan and their solid dispersions

Наименование образца Sample	Граничные размеры частиц фракций, мм Boundary sizes of fraction particles, mm					
		-1,0...+0,5	-0.5...+0.315	-0.315...+0.2	-0.2...+0.1	-0.1...+0
Албендазол Albendazole	<i>m</i> , г/г	0.018	0.336	2.716	13.330	1.073
	<i>x</i> , %	0.09	1.68	13.58	66.65	5.365
Арабиногалактан Arabinogalactan	<i>m</i> , г/г	0.005	0.013	0.166	6.011	12.479
	<i>x</i> , %	0.025	0.065	0.83	30.06	62.39
Албендазол + арабиногалактан (1:5) 2 ч Albendazole + arabinogalactan (1:5) 2 hours	<i>m</i> , г/г	0.761	1.285	6.983	3.216	1.128
	<i>x</i> , %	5.07	8.57	46.55	21.44	7.52
Албендазол + арабиногалактан (1:5) 8 ч Albendazole + arabinogalactan (1:5) 8 hours	<i>m</i> , г/г	0.42	1.739	1.749	5.681	5.402
	<i>x</i> , %	2.8	11.59	11.6	37.87	36.01
Албендазол + арабиногалактан (1:5) 24 ч Albendazole + arabinogalactan (1:5) 24 hours	<i>m</i> , г/г	0.357	1.603	7.569	2.359	3.112
	<i>x</i> , %	2.38	10.69	50.46	15.75	20.75
Албендазол + арабиногалактан (1:10) 2 ч Albendazole + arabinogalactan (1:10) 2 hours	<i>m</i> , г/г	0.199	0.823	1.269	6.449	4.46
	<i>x</i> , %	1.33	5.49	8.46	42.99	29.73
Албендазол + арабиногалактан (1:10) 8 ч Albendazole + arabinogalactan (1:10) 8 hours	<i>m</i> , г/г	0.339	1.933	2.122	5.615	4.447
	<i>x</i> , %	2.26	12.87	14.15	37.43	29.65
Албендазол + арабиногалактан (1:10) 24 ч Albendazole + arabinogalactan (1:10) 24 hours	<i>m</i> , г/г	0.089	2.586	2.005	1.858	7.544
	<i>x</i> , %	0.59	17.24	13.37	12.39	50.29
Албендазол + арабиногалактан (1:20) 2 ч Albendazole + arabinogalactan (1:20) 2 hours	<i>m</i> , г/г	0.571	0.697	3.056	7.125	2.533
	<i>x</i> , %	3.81	4.65	20.37	47.5	16.89
Албендазол + арабиногалактан (1:20) 8 ч Albendazole + arabinogalactan (1:20) 8 hours	<i>m</i> , г/г	1.367	1.357	1.027	6.683	3.947
	<i>x</i> , %	9.11	9.05	6.85	44.55	26.31
Албендазол + арабиногалактан (1:20) 24 ч Albendazole + arabinogalactan (1:20) 24 hours	<i>m</i> , г/г	0.164	1.327	1.170	3.198	8.032
	<i>x</i> , %	1.09	8.85	7.8	21.32	53.55

Примечание. *m* – масса фракции; *x* – содержание фракции от общей массы навески.
Note. *m* – fraction mass; *x* – fraction content of the total sample weight.

ции по отношению к общему объему твердой дисперсии. В образце дисперсии АБЗ и АГ в соотношении 1:5 и при механообработке 8 ч наблюдалось увеличение фракции с размером частиц менее 0.1 мм до 36 % от общей массы. Наиболее низкое содержание мелкодисперсной фракции было установлено для твердой дисперсии АБЗ и АГ (1:5) и временем механообработки 2 ч и составляло 7.52 % от общей массы дисперсии, что, безусловно, скажется в дальнейшем на уменьшении пыления твердой дисперсии и агрегации микрочастиц друг с другом.

На фракционный состав твердых дисперсий оказывает влияние массовое содержание вспомогательного вещества. Содержание частиц, проходящих через сито, с размером ячейки 0.1 мм составляет: в твердой дисперсии АБЗ + АГ (1:10) и временем обработки 2 ч – 29.73 %, в образце АБЗ + АГ (1:20) 2 ч – 16.89 % (табл. 2).

В связи с тем, что наиболее монодисперсный состав был выявлен для твердой дисперсии,

ysis of bulk samples, it was found that in mechanical treatment for 8 and 24 hours, in solid dispersion, the highest frequency distribution of particles with a size of less than 20 μm is observed, compared with the sample that had 2 hour mechanical treatment (Fig. 2).

A comparison of the results of the fine particle fraction distribution dependence on the volume of samples of solid dispersions with mechanical treatment of 2 hour duration, but with different mass ratios, showed no significant differences in particle sizes.

Thus, the results of the sieve analysis of solid dispersions and dynamic image analysis of bulk samples made it possible to establish that a higher uniformity for the particle size distribution is provided in mechanical treatment for 2 hours, which will ensure the future dosing accuracy during the technological process.

In the simultaneous mechanochemical treatment of ABZ and AG, changes in their technological

полученной в течение 2 ч, далее было произведено сравнение образцов твердых дисперсий, содержащих разное соотношение АБЗ и АГ, но полученных в течение 2 ч. Результаты анализа показали, что в твердой дисперсии с массовым соотношением АБЗ к АГ 1:5 основную массу составляют частицы с размером от 0.2–0.3 мм, тогда как в образцах с соотношением 1:10 и 1:20 наблюдается более высокое содержание мелкодисперсной фракции частиц с размером менее 0.1 мм.

При анализе состава мелкодисперсной фракции методом динамического анализа изображений сыпучих образцов установили, что при режиме 8 и 24 ч механообработки в твердой дисперсии отмечается наиболее высокое частотное распределение частиц размером менее 20 мкм, по сравнению с образцом в режиме 2 ч механического воздействия (см. рис. 2).

Сравнение результатов зависимости частотного распределения мелкодисперсной фракции в отношении к объему образцов твердых дисперсий с режимом механообработки 2 ч, но с разными массовыми соотношениями показало, что статистически значимых различий размеров частиц не наблюдается.

Таким образом, результаты методов ситового анализа твердых дисперсий и динамического анализа изображений сыпучих образцов позволили установить, что при режиме 2 ч механохимического воздействия обеспечивается более высокая степень однородности в отношении фракционного состава, что обеспечит в дальнейшем в ходе технологического процесса точность дозирования.

В процессе совместной механохимической обработки АБЗ и АГ происходят также изменения их технологических свойств. Прессуемость (способность материала прессоваться) исходной субстанции АБЗ, оцениваемая по индексам Карра и Хауснера, характеризуется как «плохая» (индексы составляют 27.45 % и 1.38 соответственно), что исключает возможность субстанции АБЗ подвергаться прямому прессованию. В то же время исходная прессуемость субстанции АГ оценена как «очень хорошая» (индексы Карра и Хауснера составляют 7.89 % и 1.08 соответственно). После механического воздействия на АБЗ с АГ наблюдалось улучшение прессуемости твердых дисперсий. Индекс Хауснера твердых дисперсий составлял от 1.12–1.34, индекс Карра – 16–25 %, что характеризует прессуемость твердых дисперсий как «среднюю» и «удовлетворительную» и позволяет рассматривать таблетки

properties also occur. The compressibility (ability of a substance to be pressed) of the parent substance of ABZ, estimated by the Carr's index and Hausner's ratio, is low (27.45% and 1.38, respectively), which excludes the possibility of the substance of ABZ to be directly pressed. At the same time, the initial compressibility of the AG substance was assessed as very high (the Carr's index and Hausner's ratio are 7.89% and 1.08, respectively). After mechanical treatment of ABZ with AG, an improvement in the compressibility of solid dispersions was observed. The Hausner's ratio for solid dispersions ranged from 1.12–1.34, the Carr's index – 16–25%, which characterizes the compressibility of solid dispersions as medium and acceptable, and allows us to consider tablets as a possible dosage form for further development.

The lowest Carr's index of 12.2% and the Hausner's ratio of 1.14 were found in the solid dispersion of ABZ and AG in a mass ratio of 1:10 with a mechanical treatment time of 24 hours, which allows us to assess the compressibility of this solid dispersion as high. The highest compressibility coefficient is observed in solid dispersions obtained in mechanical treatment for 2 hours. For solid dispersions of ABZ and AG (1:5), 2-hours mechanical treatment, the compressibility coefficient is 24, for the sample of solid dispersion of ABZ with AG (1:20), 2-hours mechanical treatment – 25 (Table 3).

According to the results of the flowability assessment, it was established that the parent substances of ABZ and AG do not possess flowability. After mechanical treatment and changes in the shape and size of particles, it would be possible to assume an improvement in the parameter. But the complication of the particle shape during the alignment of the particle size did not lead to an increase in the flowability of solid dispersions, regardless of the ratio of ABZ and AG in the dispersion and the mechanical treatment time.

Thus, the study made it possible to characterize the solid dispersions of ABZ with AG in the term of the suitability of obtaining an oral dosage form (tablets, capsules), as well as to identify the properties of the dispersion that require correction by preliminary granulation or the addition of excipients.

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. Solid dispersions of ABZ with AG as a carrier obtained by solid-phase mechanochemical treatment are characterized by changes in physical properties. For solid dispersions of ABZ with AG, in com-

Таблица 3. Технологические свойства албендазола, арабиногалактана и их твердых дисперсий
Table 3. Technological properties of albendazole, arabinogalactan and their solid dispersions

Вещество/твердая дисперсия Substance/solid dispersion	Режим механо-обработки Mechanical treatment	Насыпная плотность, г/мл Density, g/ml		Коэффициент прессыруемости Compressibility coefficient	Индекс Хауснера Hausner's ratio	Индекс Карра Carr's index
		до уплотнения bulk density	после уплотнения tapped density			
Албендазол Albendazole	Без обработки No treatment	0.37	0.51	28	1.38	27.45
Арабиногалактан Arabinogalactan	Без обработки No treatment	0.35	0.46	7.69	1.08	7.89
Албендазол + арабиногалактан (1:5) Albendazole + arabinogalactan (1:5)	2 ч / hours	0.53	0.69	24	1.30	23.20
	8 ч / hours	0.69	0.80	13.79	1.16	13.75
	24 ч / hours	0.59	0.74	20.59	1.25	20.27
Албендазол + арабиногалактан (1:10) Albendazole + arabinogalactan (1:10)	2 ч / hours	0.56	0.71	22.20	1.27	21.13
	8 ч / hours	0.71	0.54	24.32	1.31	23.94
	24 ч / hours	0.72	0.82	12	1.14	12.20
Албендазол + арабиногалактан (1:20) Albendazole + arabinogalactan (1:20)	2 ч / hours	0.53	0.70	25	1.32	24.30
	8 ч / hours	0.58	0.70	16.67	1.20	17.14
	24 ч / hours	0.58	0.71	19.20	1.22	18.31

как возможную лекарственную форму для дальнейшей разработки.

Наиболее низкий индекс Карра 12.2 % и индекс Хауснера 1.14 установлен у твердой дисперсии АБЗ и АГ в массовом соотношении 1:10 с временем механообработки 24 ч, что позволяет оценить прессыруемость данной твердой дисперсии как «хорошую». Самый высокий коэффициент прессыруемости отмечается у твердых дисперсий, полученных через 2 ч механообработки. Для твердых дисперсий АБЗ и АГ (1:5) 2 ч коэффициент прессыруемости равен 24, для образца твердой дисперсии АБЗ с АГ (1:20) 2 ч – 25 (табл. 3).

По результатам проведенных исследований сыпучести установили, что исходные субстанции АБЗ и АГ сыпучестью не обладают. В результате механической обработки и изменения формы и размеров частиц возможно было бы предположить улучшение показателя. Но усложнение формы частиц при выравнивании фракционного состава не привело к повышению сыпучести массы твердых дисперсий вне зависимости от соотношения АБЗ и АГ в дисперсии и времени механического воздействия.

Таким образом, проведенные исследования позволили охарактеризовать твердые дисперсии АБЗ с АГ с точки зрения пригодности получения пероральной лекарственной формы (таблетки, капсулы), а также выявить свойства дисперсии, требующие корректировки путем предваритель-

parison with the substance of ABZ, a change in the shape and size of particles has been revealed.

2. For solid dispersions of ABZ and AG, a change in the particle size distribution composition has been established. The dependence of the particle size distribution on the mechanical treatment time is revealed. The most monodisperse composition of solid dispersions is observed during mechanical treatment for 2 hours.

3. Solid dispersions of ABZ are characterized by a 2-fold improvement in the compressibility compared to the parent substance of ABZ.

4. The mechanochemical treatment of ABZ does not affect its flowability.

5. The appropriate mass ratio of components for obtaining a solid dispersion of ABZ with AG is 1:5, and the mechanical treatment time being 2 hours.

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

ного гранулирования или введения вспомогательных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Твердые дисперсии АБЗ с использованием АГ в качестве носителя, полученные методом

твердофазной механохимической обработки, характеризуются изменением физических свойств. Для твердых дисперсий АБЗ с АГ в сравнении с субстанцией АБЗ установлено изменение формы и размера частиц.

2. Для твердых дисперсий АБЗ и АГ установлено изменение фракционного состава. Выявлена зависимость фракционного состава от времени механического воздействия. Наиболее монодисперсный состав твердых дисперсий наблюдается при механообработке в течение 2 ч.

3. Твердые дисперсии АБЗ характеризуются улучшением пресуемости в 2 раза по сравнению с исходной субстанцией АБЗ.

4. Механохимическое воздействие на АБЗ не влияет на его сыпучесть.

5. Оптимальным массовым соотношением компонентов для получения твердой дисперсии АБЗ с АГ является 1:5, а время механообработки – 2 ч.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Халиков С.С., Халиков М.С., Метелева Е.С. и др. Механохимическая модификация свойств антигельминтных препаратов // Химия в интересах устойчивого развития. 2011;19(6):699-703.
2. Плотникова Е.Ю., Баранова Е.Н. Проблемы лечения описторхозной инвазии // РМЖ. Медицинское обозрение. 2018;26(3):53-56.
3. Мусаев Г.Х., Фатьянова А.С., Левкин В.В. Принципы и современные тенденции лечения эхинококкоза печени // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2017;12:90-94. DOI: 10.17116/hirurgia20171290-94.
4. Чистяченко Ю.С., Хвостов М.В., Белоусов А.И. и др. Физико-химические свойства и противоописторхозное действие механохимически синтезированных супрамолекулярных комплексов албендазола и полисахарида арабиногалактана из лиственниц *Larix sibirica* и *Larix gmelinii* // Доклады академии наук. 2014;456(6):741-743. DOI: 10.7868/So869565214180273.
5. Марченко В.А., Куринов Д.А., Василенко Ю.А. и др. Эффективность противопаразитарных гранул на основе механохимического комплекса албендазола и полисахарида арабиногалактана из древесины лиственниц сибирской и Гмелина при гельминтозах маралов в Республике Алтай // Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий: материалы VII Международ. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию Горно-Алтайского государственного университета (Горно-Алтайск, 6–8 июня 2019 г.). Горно-Алтайск: Горно-Алтайский государственный университет, 2019. С. 293–298.
6. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г. и др. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых межмолекулярных комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ // Известия Академии наук. Серия химическая. 2008;6:1274-1283.
7. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г. и др. Супрамолекулярные системы доставки молекул лекарственных веществ на основе водорастворимых растительных метаболитов. Физико-химические, фармакологические свойства и особенности механохимического получения // Химия в интересах устойчивого развития. 2019;27(3):233-244. DOI: 10.15372/KhUR2019129.

REFERENCES

1. Khalikov S.S., Khalikov M.S., Meteleva E.S. et al. Mechanochemical modification of the properties of antihelminthic preparations. *Chemistry for Sustainable Development*. 2011;19(6):699-703. (In Russ.)
2. Plotnikova E.Yu., Baranova E.N. Problems of treatment of opisthorchiasis. *RMJ. Medical Review*. 2018;26(3):53-56. (In Russ.)
3. Musaev G.Kh., Fatyanova A.S., Levkin V.V. Principles and modern trends in liver echinococcosis treatment. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2017;12:90-94. DOI: 10.17116/hirurgia20171290-94. (In Russ.)
4. Chistyachenko Y.S., Khvostov M.V., Belousov A.I. et al. Physicochemical properties and anti-opisthorchosis effect of mechanochemically synthesized supramolecular complexes of Albendazole with the polysaccharide Arabinogalactan from *Larix sibirica* and *Larix gmelinii*. *Doklady Akademii Nauk*. 2014;456(6):741-743. DOI: 10.7868/So869565214180273. (In Russ.)
5. Marchenko V.A., Kurinov D.A., Vasilenko Yu.A. et al. (2019). The effectiveness of antiparasitic granules based on the mechanochemically synthesized complex of albendazole and the polysaccharide arabinogalactan from *Larix sibirica* and *Larix gmelinii* in helminthiasis of maral (*Cervus elaphus sibiricus*) in the Altai Republic. In *Actual Problems of Agriculture of Mountain Territories: proceeding of the VII International Scientific and Practical Conference, dedicated to 70th anniversary of Gorno-Altai State University (Gorno-Altai, June 6–8, 2019)*. Gorno-Altaysk: Gorno-Altai State University. P. 293–298. (In Russ.)
6. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Tolstikova T.G. et al. Mechanochemical preparation and pharmacological activities of water-soluble intermolecular complexes of arabinogalactan with medicinal agents. *Russian Chemical Bulletin*. 2008;57(6):1299-1307.
7. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Tolstikova T.G. et al. Supramolecular systems for the delivery of the molecules of medicinal substances based on water-soluble plant metabolites. Physicochemical, pharmacological properties and the features of mechanochemical preparation. *Chemistry for Sustainable Development*. 2019;27(3):233-244. DOI: 10.15372/KhUR2019129. (In Russ.)

8. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y. et al. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and polysaccharide arabinogalactan from larch wood // *Cur. Drug Deliv.* 2015;12(5):477-490. DOI: 10.2174/1567201812666150518094739.
 9. Патент РФ № 2546535. Противопаразитарное средство на основе альбендазола и способ его использования для лечения кишечных гельминтозов млекопитающих / С.С. Халиков, А.В. Душкин, Ю.С. Чистяченко и др. Оpubл. 10.04.2015.
 10. Патент РФ № 2545797. Композиция на основе альбендазола с противоописторхозной фармакологической активностью / А.В. Душкин, Е.С. Метелева, Н.З. Ляхов и др. Оpubл. 10.04.2015.
 11. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Остроухова Л.А. Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования (Обзор) // *Химия растительного сырья.* 2003;1:27-37.
 12. Robinson R.R., Feirtag J., Slavin J.L. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects // *J. Am. Coll. Nutr.* 2001;20(4):279-285. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719048.
 13. Groman E.V., Enriquez P.M., Jung C., Josephson L. Arabinogalactan for hepatic drug delivery // *Bioconjug. Chem.* 1994;5(6):547-556. DOI: 10.1021/bc00030a010.
 14. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 27.06.2023).
 15. Касымов И.Д., Басевич А.В. Изучение технологических свойств вспомогательных веществ при разработке состава орально диспергируемых таблеток // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):46-53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-46-53.
8. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y. et al. A physicochemical and pharmacological study of the newly synthesized complex of albendazole and polysaccharide arabinogalactan from larch wood. *Cur. Drug Deliv.* 2015;12(5):477-490. DOI: 10.2174/1567201812666150518094739.
 9. Khalikov S.S., Dushkin A.V., Chistyachenko Yu.S. et al. RF Patent No. 2546535. Antiparasitic agent based on albendazole and method of its use for treatment of helminthiases of mammals. Published: 10.04.2015. (In Russ.)
 10. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Lyakhov N.Z., et al. RF Patent No. 2545797. Albendazole-based composition with pharmacological activity against *Opisthorchis* spp. infection. Published: 10.04.2015. (In Russ.)
 11. Medvedeva E.N., Babkin V.A., Ostroukhova L.A. Arabinogalactan from larch – properties and prospects of use (Review). *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja.* 2003;1:27-37. (In Russ.)
 12. Robinson R.R., Feirtag J., Slavin J.L. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects. *J. Am. Coll. Nutr.* 2001;20(4):279-285. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719048.
 13. Groman E.V., Enriquez P.M., Jung C., Josephson L. Arabinogalactan for hepatic drug delivery. *Bioconjug. Chem.* 1994;5(6):547-556. DOI: 10.1021/bc00030a010.
 14. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed 27.06.2023).
 15. Kasymov I.D., Basevich A.V. Study of the technological properties of excipients in the development of the composition of orally dispersible tablets. *Drug Development & Registration.* 2021;10(4):46-53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-46-53. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тихомирова Юлия Игоревна – аспирант кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0008-5066-678X.

Карабинцева Наталия Олеговна – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0007-1159-2776.

Метелева Елизавета Сергеевна – канд. хим. наук, старший научный сотрудник группы механохимии биологически активных веществ ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6255-5381.

Евсеев Вероника Ивановна – канд. хим. наук, старший научный сотрудник группы механохимии биологически активных веществ ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-0686-3099.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia I. Tikhomirova – Postgraduate Student, Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0008-5066-678X.

Natalia O. Karabintseva – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Head, Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0007-1159-2776.

Elizaveta S. Meteleva – Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Group of Mechanochemistry of Biologically Active Substances, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6255-5381.

Veronika I. Evseenko – Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Group of Mechanochemistry of Biologically Active Substances, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0686-3099.

Alexander V. Dushkin – Dr. Sci. (Chem.), Chief Researcher, Head, Group of Mechanochemistry of

Душкин Александр Валерьевич – д-р хим. наук, главный научный сотрудник, руководитель группы механохимии биологически активных веществ ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0269-4651.

Зеликман Максим Валентинович – младший научный сотрудник группы механохимии биологически активных веществ ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-8706-5840.

Biologically Active Substances, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0269-4651.

Maxim V. Zelikman – Junior Researcher, Group of Mechanochemistry of Biologically Active Substances, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8706-5840.



Изучение организационных проблем размещения аптечных организаций (на примере Новосибирской области)

О.А. Борисова, И.А. Джупарова

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

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Перенасыщение крупных городов аптечными организациями и объединение их в сети ведет к повышению конкуренции между ними, в то же время в сельских населенных пунктах у населения зачастую отсутствует возможность приобретения лекарственных препаратов непосредственно в местах проживания, поскольку нет функционирующих аптечных организаций. В этих условиях необходима оптимизация размещения аптечных организаций (АО), которое законодательно никак не регламентировано.

Ц е л ь . Оценка степени концентрации фармацевтического рынка РФ и анализ размещения аптечных организаций в муниципальных образованиях Новосибирской области в 2021 г.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Материалами исследования служили данные единого реестра лицензий Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, а также отчеты компании DSM Group, статистические сведения ГБУЗ НСО «Медицинский информационно-аналитический центр», сведения о количестве аптечных организаций сервиса 2ГИС по 10 муниципальным образованиям Новосибирской области и отдельно по 10 районам г. Новосибирска. Методы исследования: контент-анализ, нормативный, индексный метод, экономико-статистический, регрессионный анализ.

Р е з у л ь т а т ы . Рассчитанный нами индекс Херфиндаля – Хиршмана за 2021 г. – 427.69 позволил установить, что фармацевтический рынок России является низкоконцентрированным, ни одна аптечная сеть не имеет доминирующего положения на рынке, поэтому нормы антимонопольного регулирования рынка не применимы в настоящее время.

Рассчитанное среднее значение фактического количества населения, приходящегося на одну АО в 10 районах г. Новосибирска, составило 26.26 тыс. чел. Наименьшее количество населения на одну АО наблюдается в Центральном районе города; прибыльность их работы обеспечивается за счет высокого трафика посетителей в будние дни и близкого расположения деловых центров. На основе полученных данных установлено, что в каждом из районов г. Новосибирска количество населения, приходящееся на одну АО, в 10–15 раз меньше нормативов, рассчитанных по методическим рекомендациям МЗ РФ.

Рассчитанное значение фактического количества населения, приходящегося на одну АО в муниципальных образованиях Новосибирской области, составило 15.321 тыс. чел. Среди муниципальных образований Новосибирской области только в р.п. Кольцово наблюдается соответствие количества аптек числу жителей, в остальных районах установлен избыток аптек, дисбаланс их размещения.

Также было установлено, что в центральных районных больницах Новосибирской области фармацевтическую деятельность осуществляют 1013 обособленных структурных подразделений.

З а к л ю ч е н и е . Выявлен рост количества АО и усиление неравномерного их распределения – избыток в городских муниципальных образованиях и недостаток в сельских населенных пунктах, что приводит к затруднению лекарственного обеспечения, парадоксальному повышению цен. Большинство АО Новосибирской области относится к сетевым структурам, необходима оптимизация размещения аптечных организаций для повышения физической доступности лекарственных препаратов.

Ключевые слова: доступность, аптечные организации, аптечные сети, размещение, индекс Херфиндаля – Хиршмана.

Образец цитирования: Борисова О.А., Джупарова И.А. Изучение организационных проблем размещения аптечных организаций (на примере Новосибирской области) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):50-60. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-50-60

Поступила в редакцию 05.10.2022
Прошла рецензирование 19.10.2023
Принята к публикации 11.11.2023

Автор, ответственный за переписку
Джупарова Ирина Алексеевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: uefarm@mail.ru

Received 05.10.2022
Revised 19.10.2023
Accepted 11.11.2023

Corresponding author
Irina A. Dzhuparova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: uefarm@mail.ru

Study of organizational challenges of pharmacy location (a case of the Novosibirsk region)

O.A. Borisova, I.A. Dzhuparova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The oversaturation of large cities with pharmacies and their consolidation into networks leads to increased competition between them, while at the same time, in rural settlements, the population often does not have the opportunity to purchase medications in their places of residence, since there are no pharmacies. In these conditions, it is necessary to optimize the location of pharmacies which is not regulated by law.

A i m . An assessment of the pharmaceutical market concentration in the Russian Federation and analysis of the pharmacy location in municipalities of the Novosibirsk region in 2021.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . We used data of the Unified Register of Licenses of the Federal Service for Surveillance in Healthcare, as well as reports from the DSM Group, statistical data of the Medical Information and Analytical Center of the Novosibirsk region, data on the number of pharmacies from the 2GIS app for 10 municipalities of the Novosibirsk region and separately for 10 districts of the city of Novosibirsk. Research methods: content analysis, normative and index methods, economic and statistical, and regression analyses.

R e s u l t s . The Herfindahl-Hirschman index calculated for 2021 – 427.69 – allowed us to establish that the Russian pharmaceutical market is low-concentrated, no single pharmacy network has a dominant position in the market, therefore, at present, norms of antimonopoly regulation of the market are not applicable.

The average value of the actual number of population per pharmacy in 10 districts of Novosibirsk was 26.26 thousand people. The smallest number of people per pharmacy is observed in the Central district of the city; the profitability of their work is ensured by a high consumer traffic on weekdays and the close location of office buildings. Based on the data obtained, it was established that in each of the districts of Novosibirsk, the number of population per pharmacy is 10–15 times less than the standards calculated according to the Guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation.

The actual number of population per one pharmacy in the municipalities of the Novosibirsk region was 15.321 thousand people. Among the municipalities of the Novosibirsk region, only in the worker's settlement Koltsovo there is a correspondence between the number of pharmacies and the number of residents; in other areas there is an excess of pharmacies and an imbalance in their location.

It was also found that in the central district hospitals of the Novosibirsk region, pharmaceutical activities are carried out via 1013 separate structural divisions.

C o n c l u s i o n . An increase in the amount of pharmacies and an enhancement of their uneven distribution have been revealed, namely, an excess of pharmacies – in urban municipalities and a shortage – in rural settlements, which leads to difficulties in provision of medicines and a paradoxical price increase. Most pharmacies in the Novosibirsk region belong to pharmacy networks; optimization of the pharmacy location is necessary to increase the accessibility of medicines.

Keywords: accessibility, pharmacy, pharmacy networks, location, Herfindahl-Hirschman index.

Citation example: Borisova O.A., Dzhuparova I.A. Study of organizational challenges of pharmacy location (a case of the Novosibirsk region). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):50-60. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-50-60

ВВЕДЕНИЕ

Неуклонный рост фармацевтического рынка России привел его участников к поиску новых способов неценовой конкуренции в борьбе за лояльность потребителя.

По состоянию на 1 января 2021 г. в России суммарно осуществляло работу 69.1 тыс. аптечных организаций (АО). По сравнению с 2020 г. их количество уменьшилось на 1.5 тыс. объектов. Сокращение количества аптечных организаций было обусловлено общеэкономическими пробле-

INTRODUCTION

The steady growth of the Russian pharmaceutical market has led its participants to search for new ways of non-price competition in a struggle for consumer's loyalty.

As of January 1, 2021, a total of 69.1 thousand pharmacies operated in Russia. Compared to 2020, their number decreased by 1.5 thousand facilities. The reduction in the number of pharmacies was due to general economic problems, including a drop in household incomes, as well as the loss of the ability

мами, в том числе падением доходов населения, а также потерей возможности применять единый налог на вмененный доход в отношении продажи маркированного товара.

В целом по стране аптечная инфраструктура развивалась за счет сетевых аптечных организаций. Так, общее количество аптек в составе сетей выросло за 2020 г. на 2521 объект, всего на начало 2021 г. сети объединяли 52 118 аптек. Потери единичных аптечных организаций в розничном сегменте фармацевтического рынка составили за год 4060 объектов, на сегодняшний день в нашей стране представлено 15 178 независимых аптек [1].

По данным Ассоциации независимых аптек, основной тренд на российском фармацевтическом рынке – перенасыщение крупных городов аптечными сетями, что ведет к повышению конкуренции между ними [2]. В то же время в сельских населенных пунктах у жителей зачастую отсутствует возможность приобретения лекарственных препаратов непосредственно в местах проживания, поскольку нет функционирующих аптечных организаций.

Другая характерная особенность фармацевтического рынка России – процесс объединения аптек в сети – консолидация, которая с каждым годом набирает обороты. Так, в 2014 г. было зарегистрировано 52.4 тыс. АО. При этом локальные сети занимали 35 % фармацевтического рынка, малолокальные – 23 %, региональные – 9 %, федеральные – 16 %, а одиночные аптеки – 17 %. Тогда как в 2021 г. из 69.1 тыс. аптек по всей России на локальные аптечные сети приходилось 24 %, на малолокальные – 16 %, на региональные – 16 % (прирост составил 7 %), на федеральные – 29 % (их доля увеличилась на 13 %), а на одиночные аптеки – лишь 15 % (сокращение на 2 %) [3].

Динамика количества аптечных организаций в 2014 и 2021 гг. представлена на рис. 1.

Вопрос ограничения количества аптечных организаций неоднократно поднимался в средствах массовой информации, на различных форумах, правительственных заседаниях и официально отражен в нескольких фрагментах «Стратегии развития фармацевтической промышленности РФ на период до 2030 г.», разработанной Минпромторгом и опубликованной в начале июля 2018 г.

В разделе Стратегии, посвященном, в частности, влиянию конкурентного и антимонопольного регулирования на фармацевтическую отрасль, указано: «Одним из важнейших вопросов конкурентной политики в розничном сегменте... нужно считать вопрос ограничения коли-

to apply the single tax on imputed income for the sale of labeled goods.

In the country as a whole, the pharmacy infrastructure developed at the expense of pharmacy networks. Thus, the total number of pharmacies within the networks increased in 2020 by 2521; in total, at the beginning of 2021, the networks united 52 118 pharmacies. The losses of individual pharmacies in the retail segment of the pharmaceutical market over the year amounted to 4060 facilities; today there are 15 178 independent pharmacies in our country [1].

According to the Association of Independent Pharmacies, the main trend in the Russian pharmaceutical market is the oversaturation of large cities with pharmacy networks, which leads to increased competition between them [2]. At the same time, in rural settlements the population often does not have the opportunity to purchase medications in their places of residence directly, since there are no operating pharmacies.

Another feature of the Russian pharmaceutical market is networking of pharmacies (their consolidation), which is gaining momentum every year. Thus, in 2014, 52.4 thousand pharmacies were registered. At the same time, local networks occupied 35% of the pharmaceutical market, small-locality ones – 23%, regional ones – 9%, federal ones – 16%, and independent pharmacies – 17%. While in 2021, out of 69.1 thousand pharmacies throughout Russia, local pharmacy networks accounted for 24%, small-locality ones – 16%, regional ones – 16% (an gain of 7%), federal ones – 29% (their share increased by 13%), and for single pharmacies – only 15% (reduction by 2%) [3].

Dynamics of the number of pharmacies in 2014 and 2021 is shown in Fig. 1.

The issue of limiting the number of pharmacies has been repeatedly raised in the media, at various forums, government meetings and is officially presented in several parts of the “Strategy for the Development of the Pharmaceutical Industry of the Russian Federation until 2030,” developed by the Ministry of Industry and Trade and published in early July 2018.

In the section of the Strategy, dedicated, in particular, to the impact of competition and antimonopoly regulation on the pharmaceutical industry, it is stated: “One of the most important issues of competition policy in the retail segment... should be considered the issue of limiting the number of pharmacy organizations in order to improve the quality of service when dispensing medicines, which in actually associated with a threat to life and health of the pop-

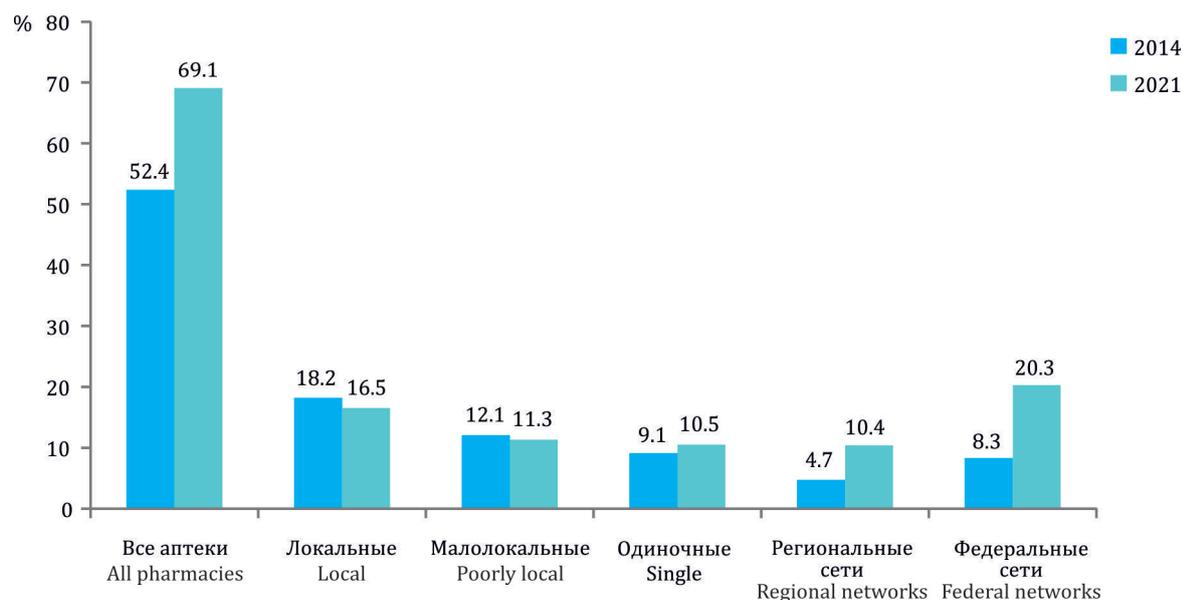


Рис. 1. Динамика количества (в тысячах) аптечных организаций в РФ в 2014 и 2021 гг.
Fig. 1. Dynamics of the number (in thousands) of pharmacies in the Russian Federation in 2014 and 2021

чества аптечных организаций с целью повышения качества обслуживания при отпуске лекарственных средств, что в действительности сопряжено с угрозой жизни и здоровью населения». Упоминается в Стратегии и проблема консолидации аптечных организаций в аптечные сети: «Увеличение количества аптек в последние десять лет, снижение цен и повышение доступности лекарственных средств для населения на практике обернулись ровно обратной статистикой с точки зрения конкуренции. Происходит последовательная консолидация аптечных сетей, цены на все значимые виды продукции растут именно из-за конкуренции между аптечными сетями в погоне за бонусами от производителей, аптеки открываются только в местах с высоким потоком потенциальных покупателей, в принципе не решая вопросы доступности лекарственных средств с учетом территориальных особенностей в Российской Федерации».

Таким образом, проблема дисбаланса размещения аптечных организаций в городских и сельских муниципальных образованиях, а соответственно, проблема физической доступности лекарственной помощи в сельских поселениях остается актуальной.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка степени концентрации фармацевтического рынка РФ и анализ размещения аптечных организаций в муниципальных образованиях Новосибирской области в 2021 г.

ulation.” The Strategy also mentions the problem of consolidation of pharmacies into pharmacy network: “The increase in the number of pharmacies in the last ten years, a price drop and the increase in medicines’ accessibility of medicines for the population in practice have resulted in exactly the opposite statistics from the point of view of competition. There is a consistent consolidation of pharmacy network, prices for all essential products are rising precisely because of competition between pharmacy network in pursuit of benefits from manufacturers, pharmacies are opening only in places with a high customer traffic, in principle, without solving the issues of accessibility of medicines, taking into account territorial features in the Russian Federation.”

Thus, the problem of imbalance in the location of pharmacies in urban and rural areas and, accordingly, the problem of accessibility of medicinal care in rural settlements remain relevant.

AIM OF THE RESEARCH

Assessment of the concentration of the pharmaceutical market in the Russian Federation and the analysis of pharmacy location in municipalities of the Novosibirsk region in 2021.

MATERIALS AND METHODS

We analyzed data of the Unified Register of Licenses of the Federal Service for Surveillance in Healthcare, as well as reports on the ratings of pharmacy networks from the DSM Group, statistical data of the Medical Information and Analytical Center of

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализировались данные единого реестра лицензий Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, а также отчеты о рейтингах аптечных сетей компании DSM Group, статистические сведения ГБУЗ НСО «Медицинский информационно-аналитический центр», сведения о количестве аптечных организаций сервиса 2ГИС по 10 муниципальным образованиям Новосибирской области и отдельно по 10 районам г. Новосибирска.

Для анализа размещения аптечных организаций по муниципальным образованиям Новосибирской области использовались Методические рекомендации Минздрава РФ от 16.10.1997 № 97/111 [4].

Применялись следующие методы исследования: контент-анализ, нормативный, индексный метод, экономико-статистический, регрессионный анализ.

Доступность фармацевтической помощи – один из важнейших социально-экономических показателей развития системы здравоохранения, характеризующий состояние урегулирования нормативного и организационного обеспечения возможности получения квалифицированной фармацевтической помощи.

Доступность фармацевтической помощи предусматривает две составляющие – физическую и социально-экономическую.

Физическая составляющая доступности фармацевтической помощи определяет предложение населению качественных лекарственных препаратов (ЛП) в нужном количестве и ассортименте, реализуемых прежде всего через аптечную сеть. Важным критерием обеспечения этого вида доступности фармацевтической помощи являются законодательно утвержденные географические (установление норм пешеходной доступности между аптеками) и демографические (установление норматива количества жителей, которое должна обслуживать одна аптека) нормы размещения учреждений здравоохранения, которые осуществляют розничную реализацию ЛП населению. Такие нормы направлены на регулирование общей численности аптек и рациональность их размещения.

Для реализации цели исследования нами был разработан методический подход, который на первом этапе включал определение степени концентрации российского фармацевтического рынка по индексу Херфиндаля – Хиршмана:

$$HHI = \sum_i^n S_i^2,$$

the Novosibirsk region, data on the number of pharmacies from the 2GIS app in 10 municipalities of the Novosibirsk region and separately for 10 districts of Novosibirsk.

To analyze the location of pharmacies in the municipalities of the Novosibirsk region, the Guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 16, 1997 No. 97/111 were used [4].

The following research methods were used: content analysis, normative, and index methods, economic and statistical and regression analyses.

Accessibility of pharmaceutical care is one of the most important social and economic indicators of the development of the healthcare system, characterizing the state of regulatory and organizational maintenance for the provision of appropriate pharmaceutical care.

Accessibility of pharmaceutical care has two components – both physical availability and affordability.

The physical component, or availability, of pharmaceutical care determines the supply of high-quality medicines to the population in the required quantity and range, sold primarily via the pharmacy networks. An important criterion for this aspect of accessibility of pharmaceutical care is the legally approved geographical (establishing standards for pedestrian availability between pharmacies) and demographic (establishing a standard for the number of residents one pharmacy should serve) standards for the location of health care institutions that carry out retail sales of medicines to the population. Such standards are aimed at regulating the total number of pharmacies and the rationality of their location.

To achieve the goal of the study, we developed a methodological approach, which at the first stage included determining the concentration of the Russian pharmaceutical market using the Herfindahl-Hirschman index:

$$HHI = \sum_i^n S_i^2,$$

where S_i is the share of each out of the 20 largest pharmacy networks, based on the ranking of network by turnover in the pharmacy commercial market [5].

At the next stage, an assessment of the accessibility was carried out which included calculating the actual number of people per pharmacy in different districts of the city of Novosibirsk, calculating the standard load on a pharmacy in accordance with the Guidelines of the Ministry of Health [4], which specified the standards for the location of pharmacy (in

где S_i – доля каждой из 20 наиболее крупных аптечных сетей, исходя из данных рейтинга сетей по обороту на аптечном коммерческом рынке [5].

На следующем этапе проводили оценку физической доступности, которая включала расчет фактического количества населения, приходящегося на 1 аптеку в разных районах города Новосибирска, расчет норматива нагрузки на аптечную организацию в соответствии с методическими рекомендациями Минздрава [4], в которых были указаны нормативы размещения аптечных организаций (в целом по стране на 8.5 тыс. чел. должно приходиться по одной аптеке: в городе – на 10.2 тыс., в селе – на 6.2 тыс. чел.), и сравнение полученных значений.

Расчет для городских муниципальных образований производился по формуле

$$Y_1 = 27.6 - 0.0287 \cdot X_1 - 1.420 \cdot X_2,$$

где Y_1 – нормативный показатель – число жителей, обслуживаемых одной городской аптекой;

X_1 – реализация лекарственных средств (ЛС) и медицинских изделий (МИ) в расчете на одного городского жителя за анализируемый год (тыс. руб.);

X_2 – число фармацевтических специалистов с высшим и средним образованием на 10 тыс. городских жителей (чел.);

27.6 – постоянный коэффициент уравнения;

0.0287 и 1.420 – коэффициенты при факторах.

Расчет для сельских муниципальных образований производился по формуле

$$Y_2 = 9.65 - 0.04773 \cdot X_3 + 1.475 \cdot X_4,$$

где Y_2 – нормативный показатель – число жителей, обслуживаемых одной сельской аптекой;

X_3 – реализация ЛС и МИ в расчете на одного сельского жителя за анализируемый год (тыс. руб.);

X_4 – число врачей на 1000 сельских жителей;

9.65 – постоянный коэффициент уравнения;

0.04773 и 1.475 – коэффициенты при факторах.

При этом учитывали, что для повышения физической доступности фармацевтической помощи в сельских муниципальных образованиях, в соответствии с Постановлением Правительства от 03.04.2020 г. № 440 «О продлении действия разрешений и иных особенностях в отношении разрешительной деятельности в 2020–2022 годах», медицинские организации получили лицензии на фармацевтическую деятельность в упрощенном порядке [6]. Это позволило в 2022 г. осуществлять отпуск лекарственных препаратов через обособленные подразделения медицинских организаций (амбулатории,

the country as a whole, there should be one pharmacy per 8.5 thousand people; in the city – per 10.2 thousand, in the village – per 6.2 thousand people), and comparison of the values obtained.

The calculation for urban municipalities was made using the formula

$$Y_1 = 27.6 - 0.0287 \cdot X_1 - 1.420 \cdot X_2,$$

where Y_1 is standard indicator: the number of residents served by one urban pharmacy;

X_1 is sales of medicines and medical devices per city resident for the analyzed year (thousand rubles);

X_2 is number of pharmacists with higher and secondary education per 10 thousand urban residents (people);

27.6 is constant coefficient of equation;

0.0287 и 1.420 are coefficients of factors.

The calculation for rural municipalities was made using the formula

$$Y_2 = 9.65 - 0.04773 \cdot X_3 + 1.475 \cdot X_4,$$

where Y_2 is standard indicator: the number of residents served by one urban pharmacy;

X_3 is sales of drugs and medical devices per rural resident for the analyzed year (thousand rubles);

X_4 is number of doctors per 1000 rural residents;

9.65 is constant coefficient of equation;

0.04773 и 1.475 are coefficients of factors.

At the same time, it was taken into account that in order to increase the access to pharmaceutical care in rural municipalities, in accordance with Government Decree No. 440 of April 3, 2020 “On the extension of permits and other features regarding licensing activities in 2020–2022,” medical facilities received licenses for pharmaceutical activities under a simplified procedure [6]. This made it possible in 2022 to dispense medications via separate divisions of medical organizations (ambulance station, medical station and medical and obstetric station, centers (departments) of general medical (family) practice) in the absence of pharmacies in rural settlements.

Another Government Decree dated March 12, 2022 No. 353 “On the specifics of licensing activities in the Russian Federation in 2022 and 2023” also establishes changes in the licensing procedure, which simplifies the procedure itself and helps increase the accessibility of pharmaceutical care in rural areas.

RESULTS AND DISCUSSION

The Herfindahl-Hirschman index we calculated for 2021 was 427.69 which is significantly less than 1000. This allowed us to determine that

фельдшерские и фельдшерско-акушерские пункты, центры (отделения) общей врачебной (семейной) практики) при отсутствии в сельских населенных пунктах аптечных организаций.

Еще одно Постановление Правительства от 12.03.2022 № 353 «Об особенностях разрешительной деятельности в Российской Федерации в 2022 и 2023 годах» также устанавливает изменения в процедуру лицензирования, что упрощает саму процедуру, способствует повышению доступности фармацевтической помощи в сельских населенных пунктах

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассчитанный нами индекс Херфиндаля – Хиршмана за 2021 г. составил 427.69, что значительно меньше 1000. Это позволило установить, что фармацевтический рынок России является низкоконцентрированным, ни одна аптечная сеть не имеет значения доли рынка 35 % и не может иметь доминирующего положения на рынке в соответствии с Федеральным законом от 26.07.2006 № 135-ФЗ «О защите конкуренции», поэтому нормы антимонопольного регулирования рынка не применимы в настоящее время, а значит, и законодательного регулирования ограничения численности аптечных организаций нет.

По данным сервиса 2ГИС в 2021 г. в г. Новосибирске осуществляли фармацевтическую деятельность 937 АО, что составляет 63.6 % от общего их количества в Новосибирской области. В основном аптеки расположены в центральной части города и на основных транспортных магистралях – в местах с более высоким трафиком клиентов (рис. 2). При этом заметен явный дефицит аптек в частном секторе г. Новосибирска. Более равномерная ситуация в микрорайонах высокоэтажной застройки – но даже там зачастую аптеки находятся рядом друг с другом, например вблизи остановки общественного транспорта.

На территории Новосибирской области размещены всего 535 АО, на которые приходится чуть более 589 тыс. чел. населения.

Так же, как и большинство АО России, – практически все из них принадлежат к той или иной аптечной сети. Наиболее распространены следующие аптечные сети – «Новосибирская аптечная сеть» (93 филиала), «Фармакопейка» (56 филиалов), «Ноль боль» (54 филиала), «Аптека от склада» (53 филиала), «Озерки» (39 филиалов), «Радуга» (32 филиала), «Эдельвейс» (30 филиалов), «Мелодия здоровья» (27 филиалов), «Гармония здоровья» (21 филиал), «СП-фарм» (19 филиалов). На долю аптек только вышеука-

the Russian pharmaceutical market is low-concentrated; no pharmacy network has a market share of 35% and cannot have a dominant position in the market in accordance with the Federal Law of July 26, 2006 No. 135 “On the Protection of Competition,” therefore, the standards of anti-monopoly regulation of the market are not applicable at the present time, which means that there is no legislative regulation of limiting the number of pharmacies.

According to the 2GIS app data, in 2021, 937 pharmacies carried out pharmaceutical activities in Novosibirsk, which is 63.6% of their total number in the Novosibirsk region. Pharmacies are mainly located in the central part of the city and on major traffic routes – in sites with higher customer traffic (Fig. 2). At the same time, there is a clear shortage of pharmacies in the areas of detached housing of Novosibirsk. The situation is more uniform in high-rise residential areas – but even there, pharmacies are often located next to each other, for example, near public transport stops.

On the territory of the Novosibirsk region there are 535 pharmacies, which account for just over 589 thousand people.

Just like most pharmacies in Russia – almost all of them belong to one or another pharmacy network. The most common pharmacy networks are the following: Novosibirskaya Aptechnaya Set' (93 branches), Pharmacopeyka (56 branches), Nol' Bol' (54 branches), Apteka ot Sklada (53 branches), Ozerki (39 branches), Raduga (32 branches), Edelweiss (30 branches), Melodiya Zdorovya (27 branches), Garmoniya Zdorovya (21 branches), SP-pharm (19 branches). The share of pharmacies of the abovementioned networks alone accounts for 45.3% of the total number of pharmacies in the city.

The calculated average value of the actual number of people per pharmacy in different districts of the city of Novosibirsk was 26.26 thousand people. The obtained quantitative values of normative indicators were compared with the actual number of residents served by one pharmacy. The calculation results are presented in Table. 1.

As we see from Table 1, the smallest number of population per pharmacy is observed in the Centralniy district. Pharmacy's profitability in the Centralniy district is ensured by a high consumer traffic on weekdays and the proximity of office buildings. Based on the data obtained, we can conclude that in each of the districts of Novosibirsk, the number of population per pharmacy is 10–15 times less than the standard values calculated

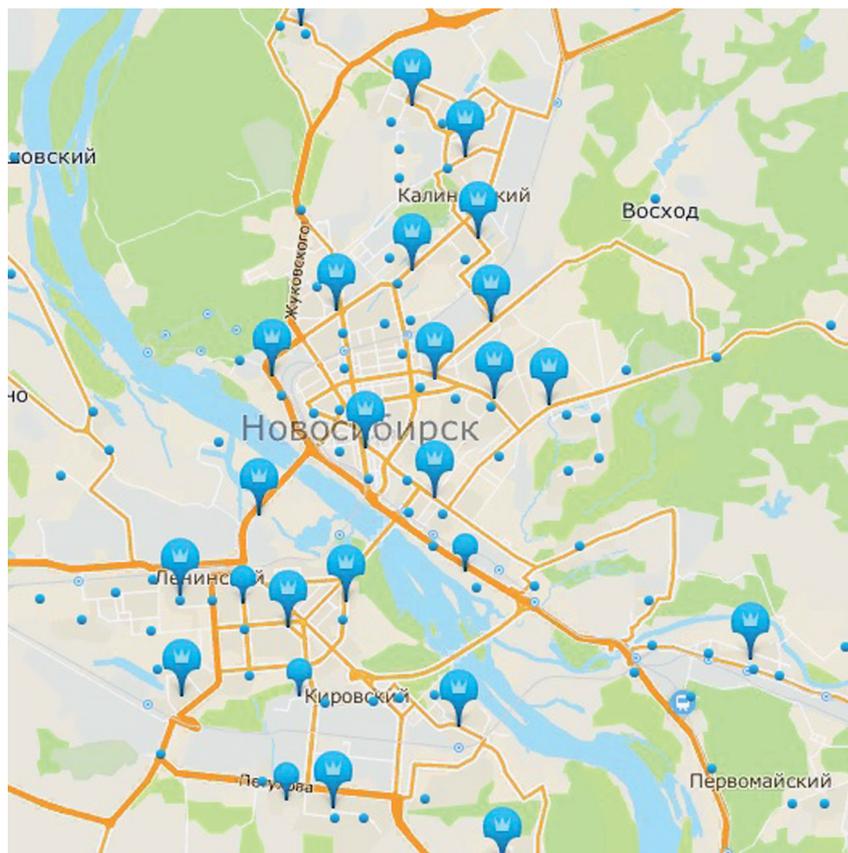


Рис. 2. Расположение аптечных организаций на карте г. Новосибирска (скриншот карты 2ГИС)
Fig. 2. Location of pharmacies on the map of Novosibirsk (screenshot of the 2GIS app map)

занных сетей приходится 45.3 % от общего числа АО в городе.

Рассчитанное среднее значение фактического количества населения, приходящегося на одну аптеку в разных районах города Новосибирска, составило 26.26 тыс. чел. Полученные количественные значения нормативных показателей сравнивались с фактическим количеством жителей, обслуживаемых одной АО. Результаты расчетов представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, наименьшее количество населения на одну АО наблюдается в Центральном районе. Прибыльность работы АО в Центральном районе обеспечивается за счет высокого трафика посетителей в будние дни и близкого расположения деловых центров. На основе полученных данных можно сделать вывод, что в каждом из районов г. Новосибирска количество населения, приходящееся на одну АО, в 10–15 раз меньше нормативов, рассчитанных по методическим рекомендациям МЗ РФ. При сохраняющихся тенденциях развития фармацевтического рынка отсутствие контроля за ростом количества АО может привести:

according to the Guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. With ongoing development trends in the pharmaceutical market, lack of control over the growth of the number of pharmacies can lead to:

- unavailability of medicines;
- paradoxical rise in medication prices;
- reduction in the quality of pharmaceutical care to the population;
- excessive pressure to purchase medicine;
- consolidation of pharmacies into pharmacy networks.

Next, we carried out similar calculations for those municipalities of the Novosibirsk region for which data were obtained from the Medical Information and Analytical Center of the Novosibirsk region (Table 2). The calculated value of the actual number of population per pharmacy in the municipalities of the Novosibirsk region was 15.321 thousand people.

As can be seen from Table 2, in the work settlement of Koltsovo, there is a correspondence between the number of pharmacies and the number of residents. In other respects, there is also an excess of

Таблица 1. Результаты исследования фактического количества населения, приходящегося на одну аптечную организацию (АО), по районам г. Новосибирска**Table 1.** Study results of the actual number of people per pharmacy by districts of Novosibirsk

Район District	Численность населения, тыс. чел. Population, thousand people	Фактическое количество АО Actual amount of pharmacies	Фактическая нагрузка на АО, тыс. чел. Actual load on pharmacy, thousand people	Нормативное число жителей, обслуживаемых одной АО, тыс. чел. Standard number of residents served by one pharmacy, thousand people	Расчетная нагрузка на АО, тыс. чел. Design load on pharmacy, thousand people	Соответствие расчетным нормативным показателям Compliance with calculated standard indicators
Дзержинский Dzerzhinskiy	174.36	110	1.585	20	26.26	Нет
Железнодорожный Zheleznodorozhniy	64.97	87	0.746	20	26.26	Нет
Заельцовский Zaeltsovskiy	149.1	114	1.313	20	26.26	Нет
Калининский Kalininskiy	200.7	117	1.715	20	26.26	Нет
Кировский Kirovskiy	186.41	136	1.37	20	26.26	Нет
Ленинский Leninskiy	302.803	183	1.654	20	26.26	Нет
Октябрьский Otyabrskiy	225.879	151	1.495	20	26.26	Нет
Первомайский Pervomaiskiy	87.91	50	1.758	20	26.26	Нет
Советский Sovetskiy	141.911	70	2.027	20	26.26	Нет
Центральный Centralniy	78.8	121	0.65	20	26.26	Нет

- к физической недоступности лекарственных препаратов;

- парадоксальному повышению цен на лекарственные препараты;

- снижению качества фармацевтической помощи населению;

- чрезмерному навязыванию приобретения лекарственных средств;

- консолидации АО в аптечные сети.

Далее нами проведены аналогичные расчеты для тех муниципальных образований Новосибирской области, для которых были получены данные ГБУЗ НСО «Медицинский информационно-аналитический центр» (табл. 2). Рассчитанное значение фактического количества населения, приходящегося на одну аптеку в муниципальных образованиях Новосибирской области, составило 15,321 тыс. чел.

Как видно из табл. 2, в р.п. Кольцово наблюдается соответствие количества аптек числу жителей. В остальном также имеется избыток аптек, но здесь более очевиден дисбаланс размещения, так как большинство аптек расположены в рай-

pharmacies, but here the location imbalance is more obvious, since most pharmacies are located in regional centers, reducing the access to medicinal care in rural settlements, especially in those remote from district centers.

We also found that all central district hospitals of 30 municipalities of the Novosibirsk region have licenses for pharmaceutical activities for storage, retail sales and dispensing of drugs. The total number of drug dispensing outlet – structural divisions of medical facilities is 1013. The number of dispensing outlets varies from 17 to 56, with the largest number located in the Tatarskiy, Toguchinskiy, Iskitimskiy municipal districts – more than 50, and the smallest – in the Kochkovskiy municipal district – 17.

CONCLUSION

The study showed that the pharmaceutical market in the Novosibirsk region is low-concentrated, and at the same time, the uneven distribution of pharmacies is increasing – an excess in urban municipalities and a shortage in rural ones, which,

Таблица 2. Результаты исследования фактического количества населения, приходящегося на одну аптечную организацию (АО) по муниципальным образованиям Новосибирской области**Table 2.** Study results of the actual number of population per pharmacy in municipalities of the Novosibirsk region

Муниципальное образование Municipality	Численность населения, тыс. чел. Population, thousand people	Фактическое количество АО Actual amount of pharmacies	Фактическая нагрузка на АО, тыс. чел. Actual load on pharmacy, thousand people	Нормативное число жителей, обслуживаемых одной АО, тыс. чел. Standard number of residents served by one pharmacy network, thousand people	Расчетная нагрузка на аптечную сеть, тыс. чел. Design load on a pharmacy network, thousand people	Соответствие расчетным нормативным показателям Compliance with calculated standard indicators
г. Бердск Berdsk, town	103.58	47	2.204	13	15.321	Нет
г. Искитим Iskitim, town Berdsk, town	56.6	31	1.83	12	15.321	Нет
р.п. Кольцово Koltsovo, work settlement of	164.67	11	14.97	13	15.321	Да
Колыванский район Kolyvanskiy district	24.043	5	4.81	6.2	15.321	Нет
Коченевский район Kochenevskiy district	46.129	19	2.427	6.2	15.321	Нет
Мошковский район Moshkovskiy district	42.145	18	2.34	6.2	15.321	Нет
Ордынский район Ordynskiy district	35.94	17	2.114	6.2	15.321	Нет
Тогучинский район Toguchinskiy district	56.63	25	2.265	6.2	15.321	Нет
Черепановский район Cherepanovskiy district	47.551	15	3.17	6.2	15.321	Нет

онных центрах, уменьшая доступность лекарственной помощи в сельских поселениях, тем более в отдаленных от районных центров населенных пунктах.

Также нами установлено, что все центральные районные больницы 30 муниципальных образований Новосибирской области имеют лицензии на фармацевтическую деятельность в части хранения, розничной торговли и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения. Общее количество пунктов отпуска лекарственных препаратов – структурных подразделений медицинских организаций составляет 1013. Количество пунктов отпуска варьирует от 17 до 56, при этом наибольшее их количество располо-

in turn, leads to adverse consequences: difficulty in providing medicines, paradoxical increase in prices, loss of the main function – providing pharmaceutical care to the population. Most pharmacies are part of pharmaceutical network structures. Without controlling the growth of pharmacy networks, it is possible that individual pharmacies will be squeezed out, and the risk of monopolization of the retail sales in the Russian pharmaceutical market increase. It is necessary to optimize the location of pharmacies to increase the accessibility of medicines.

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

жено в Татарском, Тогучинском, Искитимском муниципальных районах – более 50, а наименьшее – в Кочковском муниципальном районе – 17.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что фармацевтический рынок НСО является низкоконцентрированным, и при этом усиливается неравномерное распределение АО – избыток в городских муниципальных образованиях и недостаток в сельских, что, в свою очередь, приводит к неблагоприятным последствиям: затруднению лекарственного обеспече-

ния, парадоксальному повышению цен, утрате главной функции – оказания фармацевтической помощи населению. Большинство АО являются сетевыми структурами. Без контроля роста аптечных сетей возможно вытеснение одиночных АО и повышение риска монополизации розничного сектора фармацевтического рынка России. Необходимо оптимизация размещения аптечных организаций для повышения физической доступности лекарственных препаратов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. RNC Pharma представляет обновление БД. Перепись аптек в России за декабрь 2020 г. URL: https://rncph.ru/news/25_02_2021 (дата обращения: 11.08.2023).
2. АСНА. Ассоциация независимых аптек АСНА рассказала, кому выгодно избыточное количество аптек в России. URL: <http://promrf.ru/text/100931.html> (дата обращения: 11.08.2023).
3. Догузова В., Калиновская Е. Количество одиночных аптек постоянно растет // Фармацевтический вестник. 2021. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/news/Kolichestvo-odinochnyh-aptek-postoyanno-rastet.html> (дата обращения: 11.08.2023).
4. О принципах размещения фармацевтических (аптечных) организаций и нормативах развития сети аптек, обслуживающих население. Методические рекомендации для практических и научных работников № 97/111 (утв. Минздравом РФ 16.10.1997). URL: <https://base.garant.ru/4179038/> (дата обращения: 11.08.2023).
5. DSM Group. Рейтинг аптечных сетей по итогам 2021 г. URL: <https://dsm.ru/news/2163/> (дата обращения: 11.08.2023).
6. О продлении действия разрешений и иных особенностях в отношении разрешительной деятельности в 2020–2022 годах: Постановление Правительства от 03.04.2020 г. № 440. URL: <https://docs.cntd.ru/document/564603690> (дата обращения: 11.08.2023).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Борисова Ольга Александровна – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Джупарова Ирина Алексеевна – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

REFERENCES

1. RNC Pharma presents a database update. Census of pharmacies in Russia for December 2020 г. URL: https://rncph.ru/news/25_02_2021 (accessed 11.08.2023).
2. ASIP. The Association of Independent Pharmacies told who benefits from the excess number of pharmacies in Russia. URL: <http://promrf.ru/text/100931.html> (accessed 11.08.2023).
3. Doguzova V., Kalinovskaya E. (April, 2021). The number of single pharmacies is constantly growing. *Pharmaceutical Newsletter*. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/news/Kolichestvo-odinochnyh-aptek-postoyanno-rastet.html> (accessed 11.08.2023).
4. On the principles of pharmaceutical organization location and standards for the development of a network of pharmacies serving the population. Guidelines for practitioners and scientists No. 97/111 (approved by the Ministry of Health of the Russian Federation on October 16, 1997). URL: <https://base.garant.ru/4179038/> (accessed 11.08.2023).
5. DSM Group. Rating of pharmacy networks as of year-end 2021. URL: <https://dsm.ru/news/2163/> (accessed 11.08.2023).
6. On the extension of permits and other features regarding licensing activities in 2020–2022: Government Decree of 04/03/2020 No. 440. URL: <https://docs.cntd.ru/document/564603690> (accessed 11.08.2023).

ABOUT THE AUTHORS

Olga A. Borisova – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy, Medical and Pharmaceutical Merchandising, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Irina A. Dzhuparova – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Head, Department of Management and Economics of Pharmacy, Medical and Pharmaceutical Merchandising, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Изучение возможности количественного определения металлсодержащего лекарственного вещества в присутствии металлических примесей на примере фармацевтической субстанции висмута субсалицилат

А.А. Визер, Е.А. Ивановская

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . Анализ металлов в фармацевтической практике используется как для количественного определения основного вещества, так и при исследовании элементных примесей. Для металлсодержащих лекарственных средств очень важно, чтобы методики анализа были специфичными и лишены мешающего влияния элементных примесей.

Ц е л ь . Изучение влияния элементных примесей на количественное определение фармацевтической субстанции висмута субсалицилат.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В качестве испытуемого образца использовалась активная фармацевтическая субстанция висмута субсалицилат, полученная двумя разными способами. Стандартные образцы элементных примесей меди, свинца и серебра готовились в концентрациях с максимальным содержанием примесей согласно Европейской Фармакопее. Анализ проводился методом инверсионной вольтамперометрии.

Р е з у л ь т а т ы . Внесение растворов элементных примесей меди, свинца и серебра как отдельно, так и смеси всех трех растворов не вызывает появления сигнала на вольтамперограмме, соответствующего пику висмута. При количественном определении фармацевтической субстанции висмута субсалицилат значения соотношения высоты пика равнялись или были близки 100 %.

З а к л ю ч е н и е . Присутствие элементных примесей меди, свинца и серебра не оказывает мешающего влияния на количественное определение субстанции висмута субсалицилат методом инверсионной вольтамперометрии.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, висмута субсалицилат, элементные примеси.

Образец цитирования: Визер А.А., Ивановская Е.А. Изучение возможности количественного определения металлсодержащего лекарственного вещества в присутствии металлических примесей на примере фармацевтической субстанции висмута субсалицилат // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):61-67. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-61-67

Studying the possibility of quantification of a metal-containing medicinal substance in the presence of metal impurities using bismuth subsalicylate as an example

A.A. Vizer, E.A. Ivanovskaya

Novosibirsk State Medical University

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The analysis of metals in pharmaceutical practice uses both for the quantification of an active ingredient and for assessment of elemental impurities. For metal-containing drugs, the analytical methods must be specific and free from the interference of elemental impurities.

Поступила в редакцию 05.09.2023
Прошла рецензирование 27.09.2023
Принята к публикации 11.10.2023

Автор, ответственный за переписку
Визер Анна Александровна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: annawieser@mail.ru

Received 05.09.2023
Revised 27.09.2023
Accepted 11.10.2023

Corresponding author
Anna A. Vizer: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: annawieser@mail.ru

A i m . To study the influence of elemental impurities on the quantification of the pharmaceutical substance bismuth subsalicylate.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . As a test sample the active pharmaceutical substance bismuth subsalicylate was used obtained by two different ways. Standard samples of elemental impurities of copper, lead and silver were prepared in concentrations with the maximum impurity content according to the European Pharmacopoeia. The analysis was carried out by stripping voltammetry.

R e s u l t s . The addition of solutions of elemental impurities of copper, lead and silver, either separately or as a mixture of all three solutions, does not cause the appearance of a signal on the voltammogram corresponding to the bismuth peak. When quantifying the pharmaceutical substance bismuth subsalicylate and comparing the peak height values, the ratio of the indicators turns out to be equal or close to 100%.

C o n c l u s i o n . The presence of elemental impurities of copper, lead and silver does not interfere with the quantification of the pharmaceutical substance bismuth subsalicylate by stripping voltammetry.

Keywords: stripping voltammetry, bismuth subsalicylate, elemental impurities.

Citation example: Vizer A.A., Ivanovskaya E.A. Studying the possibility of quantification of a metal-containing medical substance in the presence of metal impurities using bismuth subsalicylate as an example. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):61-67. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-61-67

ВВЕДЕНИЕ

В связи с многообразием применения лекарственных средств в медицине и фармации на протяжении многих лет происходит непрерывный поиск новых их источников. Сегодня в практике применяются лекарственные препараты различного происхождения, в том числе синтетического, биологического или минерального.

В качестве источников металлов в составе лекарственных препаратов могут выступать как компоненты состава, так и элементные примеси. Как известно, в состав абсолютного большинства лекарственных препаратов входят активные фармацевтические субстанции (обозначаемые как действующие вещества), обуславливающие фармакологическую эффективность, и вспомогательные вещества, используемые для достижения требуемых характеристик препарата. И фармацевтические субстанции, и вспомогательные вещества могут являться источниками металлов.

Кроме того, в лекарственных средствах возможно присутствие элементных примесей. Элементными примесями являются потенциально токсичные химические элементы, присутствующие в окружающей среде при производстве лекарственного средства, но не входящие в его состав. Источниками элементных примесей могут быть вещества, добавляемые при производстве (например, катализаторы или реактивы-металлы), примеси фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ и воды, примеси из состава производственного оборудования в результате переноса с контактирующей поверхности, а также компоненты упаковки, которые появляются в процессе вымывания [1].

INTRODUCTION

Due to the diversity of uses of drugs in the fields of medicine and pharmacy, there has been a continuous years long search for new sources. Currently, medicines of various origin are used in practice, including synthetic, biological or mineral ones.

Sources of metals in the composition of medicines can be both formulation components and elemental impurities. As is well known, the vast majority of medicinal products include active pharmaceutical substances (active ingredients), which determine pharmacological activity, and excipients, which are used to achieve the required characteristics of a preparation. Both pharmaceutical substances and excipients may be sources of metals.

In addition, medicines may contain elemental impurities. Elemental impurities are potentially toxic chemical elements present in the environment during the drug manufacturing but not included in its formulation. Sources of elemental impurities may be substances added during manufacturing (for example, catalysts or reagent metals), impurities of pharmaceutical substances, excipients and water, impurities from content of production equipment as a result of transfer from the contacting surface, as well as components of package that appear due to leaching [1].

Currently, various methods of qualitative and quantitative analysis used for metal-containing drugs have been included in the State Pharmacopoeia. These methods are both chemical and physicochemical [2].

В настоящий момент в Государственную Фармакопею внесены различные методы качественного и количественного анализа, применяемые для лекарственных средств, содержащих металлы. Данные методы являются как химическими, так и физико-химическими [2].

Фармацевтическая субстанция висмута субсалицилат сама по себе является соединением металла. Кроме того, согласно частным статьям Европейской Фармакопеи и Фармакопеи США, для этой субстанции нормированы следующие элементные примеси – медь, свинец и серебро. Норма Европейской Фармакопеи находится на уровне не более 50, 20 и 25 ppm соответственно, тогда как норма Фармакопеи США одинакова для всех трех элементов и равна не более 10 ppm для каждого [3, 4]. Метод количественного определения в обеих статьях – комплексонометрия. Присутствие элементных примесей не может в существенной степени повлиять на результат комплексонометрического титрования, так как чувствительность подобных методик не настолько велика.

С целью усовершенствования фармацевтического анализа висмута субсалицилата была разработана методика его количественного определения методом инверсионной вольтамперометрии. Данный метод анализа в настоящий момент не является фармакопейным, однако обладает рядом преимуществ, в частности, высокой чувствительностью, специфичностью и возможностью одновременного анализа смесей веществ. Так как при количественном определении фармацевтической субстанции проводится анализ содержания висмута, важно установить, влияет ли присутствие элементных примесей на уровне нормы фармакопейной спецификации на полученный результат.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния элементных примесей на количественное определение фармацевтической субстанции висмута субсалицилат.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования применялась субстанция висмута субсалицилат производства ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН (ИХТТМ СО РАН), Россия, полученная с использованием двух способов синтеза (обозначены как ИХХТМ-1 и ИХХТМ-2). Способы получения данных фармацевтических субстанций не предпола-

The pharmaceutical substance bismuth subsalicylate is a metal compound itself. In addition, according to the individual monographs of the European Pharmacopoeia and the US Pharmacopoeia, the following elemental impurities are normalized for this substance: copper, lead, and silver. The European Pharmacopoeia reference value is set at no more than 50, 20, and 25 ppm, respectively, while the US Pharmacopoeia specifies the same limit for all three elements and it does not exceed 10 ppm for each [3, 4]. The method of quantification, specified in both monographs, is complexometric titration. The presence of elemental impurities cannot significantly affect the result of complexometric titration, as the sensitivity of such methods is not high enough.

To improve the pharmaceutical analysis of bismuth subsalicylate, a method for its quantification by stripping voltammetry was developed. Currently, this method is not pharmacopoeial but has several advantages, in particular, high sensitivity, specificity and the ability to simultaneously analyze mixtures of substances. Since quantification of the pharmaceutical substance involves an analysis of the bismuth content, it is important to determine whether the presence of elemental impurities at the level of the pharmacopoeial reference value affects the result obtained.

AIM OF THE RESEARCH

To study the influence of elemental impurities on the quantification of the pharmaceutical substance bismuth subsalicylate.

MATERIALS AND METHODS

An object of study was the substance bismuth subsalicylate produced by the Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry (ISSCM) of a Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, obtained using two methods of synthesis (codenamed ISSCM-1 and ISSCM-2). For obtaining these pharmaceutical substances metal reagents or catalysts did not use [5].

The measurements were carried out on a TA-4 voltammetric analyzer (Tomanalit LLC, Tomsk) using VALabTX software supplied with the kit. The analysis was carried out in a two-electrode cell, a mercury film electrode (amalgam) was used as a working electrode, and a silver chloride electrode was used as a reference one.

All reagents had the qualification “chemically pure” or “pure for analysis”.

гают использования металлических реактивов или катализаторов [5].

Измерения проводились на вольтамперометрическом анализаторе ТА-4 (ООО «НПП «Томь-аналит», г. Томск) с использованием программного обеспечения VALabTX, поставляемого в комплекте. Анализ осуществлялся в двухэлектродной ячейке, в качестве рабочего электрода использовался ртутный пленочный электрод (амальгамный), в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный.

Все применяемые реактивы имели квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

В качестве растворителя для приготовления раствора висмута субсалицилата и основного фонового электролита применялся водный раствор, содержащий 0.2 М азотной кислоты и 0.2 М натрия нитрата.

Анализ проводился согласно [6] при следующих условиях: постоянноточковая форма развертки, потенциал 0.008 В, поиск потенциала (диапазон) 0.500 В, потенциал перемешивания 1.100 В, потенциал успокоения 1.100 В. Длительность перемешивания 30 с, длительность интегрирования 20 мс.

Стандартные растворы меди, свинца и серебра были приготовлены путем растворения меди сульфата, свинца нитрата и серебра нитрата соответственно в растворе азотной кислоты 6.5 % с последующим разведением полученных растворов тем же растворителем до требуемой концентрации. Чтобы исследовать максимально возможное содержание примесей, использовались растворы с концентрацией меди, свинца и серебра 0.005, 0.002 и 0.0025 % (50, 20 и 25 ppm) относительно концентрации висмута субсалицилата в испытуемом растворе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния элементных примесей меди, свинца и серебра на количественное определение висмута аликвоты стандартных растворов меди, свинца и серебра были внесены к фоновому электролиту по отдельности. Согласно полученным данным, аналитический сигнал, соответствующий пику висмута, был равен нулю (0.000 мкА) для каждой элементной примеси. Кроме того, аналогичный результат был получен при введении смеси всех трех растворов.

Проведено исследование мешающего влияния элементных примесей при совместном присутствии в растворе с анализируемой субстанцией. Для этого первоначально был получен сиг-

An aqueous solution containing 0.2 M nitric acid and 0.2 M sodium nitrate was used as a solvent to prepare a solution of bismuth subsalicylate and the main background electrolyte.

The analysis was performed according to [6] under the following conditions: direct-current sweep, potential 0.008 V, potential range 0.500 V, mixing potential 1.100 V, damping potential 1.100 V. Mixing duration 30 s, integration duration 20 ms.

Standard solutions of copper, lead and silver were prepared by dissolving copper sulfate, lead nitrate and silver nitrate, respectively, in a 6.5% nitric acid solution, followed by diluting the solutions obtained with the same solvent to the required concentration. To study the maximum impurity content, solutions with concentrations of copper, lead and silver of 0.005, 0.002 and 0.0025% (50, 20 and 25 ppm) were used relative to the concentration of bismuth subsalicylate in the test solution.

RESULTS AND DISCUSSION

To assess the influence of elemental impurities of copper, lead and silver on the quantification of bismuth, aliquots of standard solutions of copper, lead and silver were added separately to the background electrolyte. According to the data obtained, the analytical signal corresponding to the bismuth peak was equal to zero (0.000 μA) for each elemental impurity. In addition, a similar result was obtained when adding a mixture of all three solutions.

We carried out a study of the interfering interference of all three elemental impurities in the solution with the test substance. For this purpose, a signal from the background electrolyte was initially obtained, and then a signal from a solution of the pharmaceutical substance bismuth subsalicylate was obtained according to the quantification method. Then a spiked sample of the corresponding elemental impurity was added and the procedure was repeated. The analysis was also carried out by adding standard solutions of copper, lead and silver simultaneously. A typical voltammogram of a solution of bismuth subsalicylate with the addition of a mixture of standard solutions of elemental impurities is shown on Fig. 1.

The interfering effect was assessed by the ratio of analytical signals of bismuth subsalicylate (peak height, μA) before and after introducing the addition using the following formula: $\text{RPH} = V_{\text{ad}} / V_{\text{ba}}$, where RPH is the ratio of peak height values (%); V_{ad} – peak

нал фонового электролита, затем сигнал раствора фармацевтической субстанции висмута субсалицилат, приготовленного согласно методике количественного определения. Затем к данной пробе вносили добавку стандартного раствора соответствующей элементной примеси и повторяли анализ. Также анализ был проведен при введении стандартных растворов меди, свинца и серебра одновременно. Типичная вольт-амперограмма раствора висмута субсалицилата с добавкой смеси стандартных растворов элементных примесей показана на рис. 1.

Мешающее влияние оценено по соотношению аналитических сигналов висмута субсалицилата (высота пика, мкА) до и после внесения добавки

height after the addition (μA); V_{ba} – peak height before the addition (μA). The results obtained (average values of three measurements) are presented in Table 1. According to the data presented, the addition of elemental impurities does not significantly affect the recovery of bismuth during quantification; the ratios of peak height values in all cases were equal to or close to 100%.

It should be noted that other electrodes or cells are usually used to analyze these elemental impurities. For example, to determine silver on the devices manufactured by Tomanalit LLC, a carbon-containing electrode is used, and to measure copper and lead, a three-electrode cell is used (amalgam electrodes are used as working electrodes, silver chloride

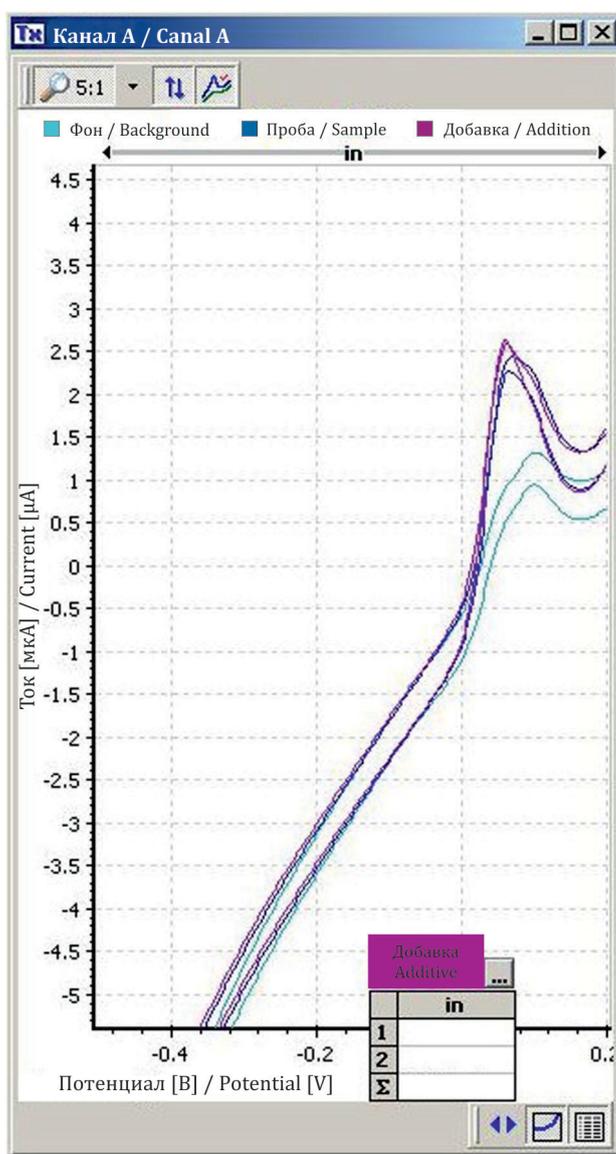


Рис. 1. Вольтамперограмма раствора испытуемого образца с совокупной добавкой стандартных образцов меди, свинца и серебра

Fig. 1. Voltammogram of a solution of the test sample with addition all three standard samples of copper, lead and silver

Таблица 1. Результат количественного определения висмута субсалицилата в испытуемых растворах субстанции до и после внесения добавки элементных примесей**Table 1.** The results of the quantification of bismuth subsalicylate in the test solutions before and after adding elemental impurities

Добавка Addition	Высота пика до внесения добавки, мкА Peak height before the addition, μA	Высота пика после внесения добавки, мкА Peak height after the addition, μA	Соотношение значений высоты пика, % The ratio of peak height values, %
<i>Испытуемый образец ИХХТМ-1 / ISSCM-1 sample</i>			
Стандартный раствор меди 50 ppm Standard solution of copper 50 ppm	2.526	2.527	100.0
Стандартный раствор свинца 20 ppm Standard solution of lead 20 ppm	2.491	2.491	100.0
Стандартный раствор серебра 25 ppm Standard solution of silver 25 ppm	2.499	2.496	99.9
Одновременное введение всех трех стандартных растворов All three standard solutions simultaneously	2.515	2.518	100.1
<i>Испытуемый образец ИХХТМ-2 / ISSCM-2 sample</i>			
Стандартный раствор меди 50 ppm Standard solution of copper 50 ppm	2.618	2.615	99.9
Стандартный раствор свинца 20 ppm Standard solution of lead 20 ppm	2.631	2.633	100.0
Стандартный раствор серебра 25 ppm Standard solution of silver 25 ppm	2.621	2.634	100.5
Одновременное введение всех трех стандартных растворов All three standard solutions simultaneously	2.629	2.637	100.3

по следующей формуле: $\text{СВп} = \text{Вп}_{\text{пд}} / \text{Вп}_{\text{дд}}$, где СВп – соотношение значений высоты пика (%); $\text{Вп}_{\text{пд}}$ – высота пика после внесения добавки (мкА); $\text{Вп}_{\text{дд}}$ – высота пика до внесения добавки (мкА). Полученные результаты (средние значения трех измерений) представлены в табл. 1. Согласно приведенным данным, внесение добавок элементных примесей существенно не влияет на извлечение висмута при количественном определении, соотношения значений высоты пика во всех случаях равнялись или были близки 100 %.

Необходимо отметить, что для анализа данных элементных примесей обычно применяются другие электроды или ячейки. Так, для определения серебра на приборах производства ООО «НПП «Томьяналит» используют углеродсодержащий электрод, а для анализа меди и свинца – трехэлектродную ячейку (амальгамные электроды используются в качестве рабочих, хлорсеребряные – как вспомогательные электроды и электроды сравнения) [7]. Данный факт дополнительно снижает вероятность мешающего влияния в ходе анализа.

electrodes – as secondary and reference electrodes) [7]. This fact further reduces the likelihood of interference during the analysis.

According to the results obtained, when adding copper, lead and silver in quantity of 50, 20 and 25 ppm, respectively, relative to the concentration of bismuth subsalicylate in the test solution, there is no signal on the voltammograms overlapping the bismuth signal during the quantification. The method for the quantification of bismuth subsalicylate is specific and accurate for possible elemental impurities of the substance.

CONCLUSION

During the study, it was found that the presence of elemental impurities of copper, lead and silver at the level of reference value of individual pharmacopoeial monographs does not interfere with the quantification of the the substance bismuth subsalicylate by stripping voltammetry.

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

Согласно полученным результатам, при внесении добавки меди, свинца и серебра в количествах 50, 20 и 25 ppm относительно концентрации висмута субсалицилата в испытуемом растворе на вольтамперограммах отсутствует сигнал, накладывающийся на сигнал висмута при количественном определении. Методика количественного определения висмута субсалицилата является специфичной и правильной в отношении возможных элементных примесей субстанции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ICH guideline Q3D (R2) on elemental impurities. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-16.pdf (дата обращения: 09.10.2023).
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Издание 14-е. М., 2018. Том 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (дата обращения: 09.10.2023).
3. European Pharmacopoeia 9.0 / European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Strasbourg, 2016. Vol. 2. P. 1854.
4. The United States Pharmacopeia 41. The National Formulary 36 / United States Pharmacopeial Convention. 2018. Vol. 1. P. 536–539.
5. Тимакова Е.В., Юхин Ю.М., Удалова Т.А. Получение оксид-салицилата висмута (III) из его нитратных растворов для медицинских целей // Химия в интересах устойчивого развития. 2009;17:313-321.
6. Визер А.А., Ивановская Е.А. Влияние параметров метода инверсионной вольтамперометрии на количественное определение иона висмута в фармацевтической субстанции висмута субсалицилата // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020;4:30-37.
7. Пособие по освоению метода инверсионной вольтамперометрии и работы на вольтамперометрическом анализаторе TA-Lab. URL: <https://www.tehno.com/specification/posobie-ta-lab.pdf> (дата обращения: 09.10.2023).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Визер Анна Александровна – преподаватель кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что присутствие элементных примесей меди, свинца и серебра на уровне норм частных фармакопейных статей не оказывает мешающего влияния на количественное определение субстанции висмута субсалицилат методом инверсионной вольтамперометрии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. ICH guideline Q3D (R2) on elemental impurities. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-16.pdf (accessed 09.10.2023).
2. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th edition (2018). Moscow. Vol. 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (accessed 09.10.2023).
3. *European Pharmacopoeia 9.0* (2016) / European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Strasbourg. Vol. 2. P. 1584.
4. *The United States Pharmacopeia 41. The National Formulary 36* / (2018) / United States Pharmacopeial Convention. Vol. 1. P. 536–539.
5. Timakova E.V., Yukhin Yu.M., Udalova T.A. Synthesis of bismuth (III) oxide-salicylate from its nitrate solutions for medical purposes. *Chemistry for Sustainable Development*. 2009;17:313-321. (In Russ.)
6. Vizer A.A., Ivanovskaya E.A. The influence of the stripping voltammetry parameters on the quantitative determination of the bismuth ion in the pharmaceutical substance of bismuth subsalicylate. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;4:30-37.
7. Guidance for stripping voltammetry and working on a TA-Lab voltammetric analyzer. URL: <https://www.tehno.com/specification/posobie-ta-lab.pdf> (accessed 09.10.2023).

ABOUT THE AUTHORS

Anna A. Vizer – Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Elena A. Ivanovskaya – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Антикоагулянтная активность травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven)

О.М. Долганова, В.В. Величко, М.Е. Карташова, К.И. Ершов, Д.С. Круглов

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

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Антикоагулянты входят в протоколы лечения ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Nonea rossica* Steven представляет научный интерес в качестве источника биологически активных соединений, обладающих свойствами непрямого антикоагулянта.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Изучение антикоагулянтной активности суммарных извлечений из травы нонеи русской.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Сухой экстракт получали из травы с использованием 70% этанола, затем экстрагент удаляли. Исследование антикоагулянтного действия проводили *in vivo* (36 крыс-самцов линии Wistar) с использованием протромбинового теста. В качестве препарата сравнения использовали варфарин в дозах, рекомендованных инструкцией по применению.

Р е з у л ь т а т ы . Исследуемый экстракт в дозе 1.7 г/кг показал антикоагулянтную активность, сопоставимую с препаратом сравнения (протромбиновое время – 31.3 ± 1.27 и 33.42 ± 1.33 с соответственно).

З а к л ю ч е н и е . Нонея русская – перспективное растение для внедрения в медицинскую практику в качестве антикоагулянтного средства непрямого типа действия.

Ключевые слова: нонея русская, *Nonea rossica* Steven, непрямодействующий антикоагулянт, варфарин.

Образец цитирования: Долганова О.М., Величко В.В., Карташова М.Е., Ершов К.И., Круглов Д.С. Антикоагулянтная активность травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):68-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-68-76

Anticoagulant activity of *Nonea rossica* Steven herb

O.M. Dolganova, V.V. Velichko, M.E. Kartashova, K.I. Ershov, D.S. Kruglov

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Anticoagulants are included in the treatment protocols for several cardiovascular diseases. *Nonea rossica* Steven is of scientific interest as a source of biologically active compounds with the properties of an indirect anticoagulant.

A i m . Study of anticoagulant activity of total extracts from *Nonea rossica* Steven herb.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A dry extract was obtained from the herb using 70% ethanol, then the extractant was removed. The anticoagulant effect was studied *in vivo* (36 male Wistar rats) using a prothrombin time test. As a reference drug, warfarin was used in doses recommended by the patient information leaflet.

R e s u l t s . The extract studied at a dose of 1.7 g/kg showed anticoagulant activity comparable to the reference drug (prothrombin time is 31.3 ± 1.27 and 33.42 ± 1.33 s, respectively).

C o n c l u s i o n . *Nonea rossica* Steven is a promising plant for practical as an indirect anticoagulant.

Citation example: Dolganova O.M., Velichko V.V., Kartashova M.E., Ershov K.I., Kruglov D.S. Anticoagulant activity of *Nonea rossica* Steven herb. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):68-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-68-76

Поступила в редакцию 20.02.2023
Прошла рецензирование 10.03.2023
Принята к публикации 30.03.2023

Автор, ответственный за переписку
Величко Виктория Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

Received 20.02.2023
Revised 10.03.2023
Accepted 30.03.2023

Corresponding author
Victoria V. Velichko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Изменения в системе гемостаза играют ключевую патогенетическую роль при развитии патологических состояний, в частности, сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда, инсульт, тромбоз, тромбоз и др.). Протоколы лечения заболеваний, сопровождающихся склонностью к тромбообразованию, включают антикоагулянтные средства. Выделяют 2 группы антикоагулянтов: прямые – быстрого действия (гепарин), эффективные *in vitro* и *in vivo*, и непрямые (антагонисты витамина К) – длительного действия (варфарин, фениндион, аценокумарол), действуют только *in vivo* и после латентного периода, конкурентно ингибируют редуктазу витамина К, чем тормозят активирование последнего в организме и блокируют синтез К-витаминзависимых плазменных факторов гемостаза – II, VII, IX, X [1].

Одним из основных преимуществ антикоагулянтов непрямого типа действия является возможность их длительного применения, что позволяет проводить не только лечение, но и профилактику тромбозов и тромбозов. Свойствами антикоагулянта непрямого действия обладают соединения на основе 4-гидроксикумарина – дикумарин (3,3'-метил-ди-4-гидроксикумарин), синкумар (4-гидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-кумарин), варфарин (4-гидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-кумарин). На сегодняшний день в стандартах лечения наиболее широко применяется препарат «Варфарин» [2].

Известны антикоагулянтные свойства растений, которые обусловлены содержанием в них гликопептидов и фенилпропаноидных соединений, флавоноидов и их изомеров [2]. Препараты на основе пептидных соединений являются антикоагулянтами прямого действия [3] со всеми присущими им недостатками. С точки зрения источников биологически активных соединений (БАС), обладающих свойствами непрямого антикоагулянта, представляют интерес растения рода *Nonea* семейства бурачниковые (*Boraginaceae*). Представители рода *Nonea* обладают антикоагулянтными [4, 5], противовоспалительными, противомикробными [6], противогрибковыми и антиоксидантными свойствами [7]. Суммарные извлечения из *Nonea micrantha* Boiss. & Reut. оказывают ингибирующее действие на ацетилхолинэстеразу и бутирилхолинэстеразу, что делает этот вид перспективным для фитотерапии неврологических расстройств [8]. В России наиболее часто встречаются 5 видов рода *Nonea*: noneя

INTRODUCTION

Changes in the hemostatic system play a key pathogenetic role in the development of pathological conditions, in particular, the cardiovascular system (myocardial infarction, stroke, thromboembolism, etc.). Treatment protocols for diseases accompanied by a tendency to thrombosis include anticoagulants. There are 2 groups of anticoagulants: direct-acting (heparin), effective *in vitro* and *in vivo*, and indirect-acting (vitamin K antagonists) (warfarin, phenindione, acenocoumarol), that act only *in vivo* and after latency, competitively inhibit vitamin K reductase, thus impeding the activation of the latter and suppressing the synthesis of vitamin K-dependent factors II, VII, IX, X in the body [1].

One of the major advantages of indirect anticoagulants is the possibility of their long-term use, which allows not only treatment, but also prevention of thrombosis and thromboembolism. Properties of an indirect anticoagulant have compounds based on 4-hydroxycoumarin – dicoumarin (3,3'-methyl-di-4-hydroxycoumarin), syncumar (4-hydroxy-3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-coumarin), warfarin (4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phenylbutyl)-coumarin). To date, warfarin is the most widely used in clinical practice [2].

Anticoagulant properties of plants are known. This properties are due to the content of glycopeptides and phenylpropanoid compounds, flavonoids and their isomers [2]. Peptide drugs are direct anticoagulants [3] with all inherent disadvantages. From the viewpoint of sources of biologically active compounds (BAC) with the properties of an indirect anticoagulant, plants of the genus *Nonea* of the *Boraginaceae* family are of interest. Representatives of the genus *Nonea* have anticoagulant [4, 5], anti-inflammatory, antimicrobial [6], antifungal and antioxidant properties [7]. Total extracts from *Nonea micrantha* Boiss. & Reut. have an inhibitory effect on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase, which makes this species promising for herbal therapy of neurological disorders [8]. In Russia, 5 species of the *Nonea* genus are most common: *Nonea lutea* Rchb. ex DC., *Nonea flavescens* Fisch., *Nonea rosea* Link., *Nonea caspica* G. Don, and *Nonea rossica* Steven, of which only *Nonea rossica* Steven has an extensive distribution area and a sufficient resource potential for harvesting in our country [9]. *Nonea rossica* Steven is not used as an official preparation because of the low level of its study, however, taking into account the experience of folk medicine and phylogenetic affinity with other species of the genus, it can be assumed that anticoagulant properties are present in extracts

желтая – *Nonea lutea* Rchb. ex DC., noneя желтеющая – *Nonea flavescens* Fisch., noneя розовая – *Nonea rosea* Link., noneя каспийская – *Nonea caspica* G. Don. и noneя русская – *Nonea rossica* Steven, из которых только noneя русская имеет обширный ареал и достаточную ресурсную базу для заготовки на территории нашей страны [9]. Noneя русская вследствие малой изученности в официальной медицине не используется, однако с учетом данных народной медицины и филогенетического родства с другими видами рода можно предполагать наличие антикоагулянтных свойств у извлечений из травы noneи русской. В ходе проведенных нами исследований было установлено наличие в составе БАС noneи русской таких групп, как оксикоричные кислоты, флавоноиды, полифлавановые соединения, полисахариды, кумарины и сапонины [10]. Также была выявлена избирательная активность извлечений из noneи русской в отношении *Staphylococcus aureus*, что связано с наличием в ее составе флавоноидного комплекса – noneазида и кофейной кислоты [11]. Наряду с бактерицидным действием наличие в составе кумариновых соединений может обуславливать антикоагулянтную активность извлечений из травы noneи русской.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антикоагулянтной активности суммарных извлечений из травы noneи русской.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили настой и сухой экстракт из надземной части noneи русской. Образцы исследуемых растений были собраны в окрестностях с. Воробьево Кольванского района Новосибирской области (55°31' северной широты, 82°57' восточной долготы) на остепненном луге в период цветения в июле 2022 г. Собранное сырье доводилось до воздушно-сухого состояния (воздушно-тенивая сушка без доступа прямого солнечного света).

Для уточнения состава БАС кумариновой природы в лекарственном растительном сырье (ЛРС) noneи русской было получено извлечение с использованием в качестве экстрагента 95% спирта этилового (соотношение 1:50) по общепринятой методике [12]. К полученному фильтрату приливали равный объем 5% спиртового раствора калия гидроксида и слегка подогревали. Раствор с образовавшимся осадком центрифугировали со скоростью 8000 об./мин в течение 10 мин, осадок высушивали и взвешивали. Затем растворяли осадок в воде очищенной и определяли ультрафиоле-

from *Nonea rossica* Steven herb. Our studies showed the presence of hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyflavane compounds, polysaccharides, coumarins and saponins in the *Nonea rossica* composition [10]. The selective anti-*Staphylococcus aureus* activity of extracts from *Nonea rossica* Steven was also revealed, which is because of the presence of a flavonoid complex – noneazide and caffeic acid – in its composition [11]. Along with the bactericidal effect, the coumarin compounds of *Nonea rossica* Steven may cause anticoagulant activity of extracts from the herb.

AIM OF THE RESEARCH

Study of anticoagulant activity of total extracts from *Nonea rossica* Steven herb.

MATERIALS AND METHODS

The study objects were an infusion and a dry extract from the aboveground part of *Nonea rossica* Steven. Samples of the plant were collected in the vicinity of the village of Vorobyovo, Kolyvansky district, Novosibirsk region (latitude: 55°31', North, longitude: 82°57', East) in a steppe meadow during the flowering phase in July 2022. The collected raw materials were brought to an air-dry state (air-drying in the shade).

To clarify the composition of coumarin BAC in medicinal raw materials of *Nonea rossica*, an extraction was obtained using 95% ethyl alcohol as a solvent (ratio 1:50) according to the conventional method [12]. An equal volume of a 5% ethanolic potassium hydroxide solution was added to a filtrate obtained and slightly heated. The solution with a precipitate was centrifuged at 8000 rpm for 10 min; the precipitate was dried and weighed. Then the precipitate was dissolved in purified water, and an ultraviolet (UV) absorption spectrum was determined using a SF-56 spectrophotometer (OKB Spectr LLC, Russia).

The study of anticoagulant activity was carried out *in vivo*, for which appropriate dosage forms were obtained. To obtain a dry extract, the raw material was crushed to a particle size of 1 mm, placed in a flask and filled with 70% ethyl alcohol at a ratio of 1:20. The flask was heated under reflux in a water bath at 55°C for 60 min, cooled with continuous stirring for 60 min. After cooling, the extract was centrifuged at 8000 rpm for 15 min to remove fine impurities. A supernatant was drained, and the extraction was evaporated by convective drying at 30–40°C.

товый (УФ) спектр извлечения на спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Исследование антикоагулянтного действия проводили *in vivo*, для чего получали соответствующие лекарственные формы. Для получения сухого экстракта сырье измельчали до размера частиц 1 мм, помещали в колбу и заливали 70% спиртом этиловым в соотношении 1:20. Колбу с присоединенным обратным холодильником выдерживали на водяной бане при температуре 55 °С в течение 60 мин, охлаждали при непрерывном перемешивании в течение 60 мин. После охлаждения экстракт центрифугировали со скоростью 8000 об./мин в течение 15 мин для удаления мелкодисперсных примесей. Надосадочную жидкость сливали и извлечение упаривали конвективной сушкой при температуре 30–40 °С.

Настой получали по общепринятой методике. Сырье, измельченное до размера частиц 1 мм, помещали в колбу и заливали водой в соотношении 1:20 и выдерживали на кипящей водяной бане 1 ч, охлаждали при непрерывном перемешивании в течение 1 ч. После охлаждения фильтровали.

В качестве препарата сравнения был выбран препарат «Варфарин» – основной антикоагулянт непрямого типа действия в рутинной клинической практике.

Эксперимент *in vivo* проведен на 36 крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище. Условия содержания и манипуляции с животными соответствовали стандартам, установленным в нормативных документах, регламентирующих работу с лабораторными животными (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», Хельсинкская декларация о гуманном обращении с животными (1996)). Все экспериментальные манипуляции и забор образцов проводили в одно и то же время.

Животные были разделены на четыре группы (табл. 1), в каждой по 9 крыс. Всем крысам один раз в сутки в течение 4 дней внутривенно вводили растворы в объеме 0.5 мл на 100 г массы тела животного. Животным первой группы (интактная) вводили дистиллированную воду; животные второй группы получали настой травы нонеи русской из расчета на сухой вес – 1.7 г/кг; животные третьей группы получали спиртовой экстракт из травы нонеи русской в аналогичной дозе; четвертая группа (контрольная) получала препарат сравнения – варфарин в дозе 0.215 мг/кг.

An infusion was obtained according to the conventional technique. The raw material, crushed to a particle size of 1 mm, was placed in a flask with water at a ratio of 1:20 and incubated in a boiling water bath for 1 h, cooled with continuous stirring for 1 h. After cooling, it was filtered.

As a reference drug, warfarin was chosen – the main indirect anticoagulant in routine clinical practice.

The *in vivo* experiment was carried out on 36 Wistar male rats weighing 200–220 g. The animals were kept under standard conditions of the vivarium with normal diet and free access to water and food. The conditions of keeping and manipulations of animals complied with the standards established in the regulatory documents concerning experiments involving laboratory animals (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 199n, 01.04.2016 “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice”; Declaration of Helsinki (1996)). All experimental manipulations and sampling were carried out at the same time.

The animals were divided into four groups (Table 1), 9 rats in each. Solutions in the volume of 0.5 ml per 100 g of body were administered to all rats intragastrically once a day for 4 days. Distilled water was administered to animals of the first group (intact); animals of the second group received infusion of *Nonea rossica* herb at a dose of 1.7 g/kg on dry weight basis; animals of the third group received the *Nonea rossica* ethanolic extract at a similar dose; the fourth group (control) received a reference drug, warfarin, at a dose of 0.215 mg/kg.

The anticoagulant activity was assessed using a prothrombin time test. Accomplish this, on the fifth day blood was taken from the tail vein from anesthetized animals into test tubes with 5.5-aqueous sodium citrate 3.8% at a ratio of 1:9. To obtain blood plasma, centrifugation was performed at 3000 rpm for 15 min at 18 to 25°C. The resulting plasma was transferred to clean test tubes. The determination of prothrombin time (PT) was performed using an APG4-402P coagulometer (Technomedica LLC, Russia) and Thromboplastin kit for determining PT *in vitro* (SPD Renam, Russia). The method is based on determining the clotting time of citrated plasma under the action of a mixture of thromboplastin and calcium ions. The time from the addition of thromboplastin and calcium ions to the test plasma until the fibrin clot formation was assessed. The time of fibrin clot formation depends on the activity of factors of the extrinsic and intrinsic coagulation pathways (II, V, VII, X). For this, 50 µl of the tested plasma was heated

Таблица 1. Дизайн исследования
Table 1. The study design

Группа животных Group of animals	Вводимые растворы / Injected solutions	Доза / Dose
1	Дистиллированная вода / Distilled water	–
2	Водный экстракт травы nonea русской Aqueous extract of <i>Nonea rossica</i> herb	1.7 г/кг (g/kg)
3	Спиртовой экстракт травы nonea русской Ethanol extract of <i>Nonea rossica</i> herb	1.7 г/кг (g/kg)
4	Варфарин / Warfarin	0.215 мг/кг (mg/kg)

Оценку антикоагулянтного действия проводили с использованием протромбинового теста. Для этого у наркотизированных животных на пятые сутки из хвостовой вены брали кровь в пробирки с 3.8% 5,5-водным цитратом натрия в соотношении 1:9. Для получения плазмы крови проводили центрифугирование при 3000 об./мин в течение 15 мин при температуре от 18 до 25 °С. Полученную плазму переносили в чистые пробирки. Определение протромбинового времени (ПВ) проводили на автоматическом коагулометре АПГ4-402П (ООО НПП «Техномедика», Россия) с использованием набора реагентов для определения ПВ *in vitro* «Тромбопластин» (НПО «Ренам», Россия). Метод основан на определении времени свертывания цитратной плазмы крови под действием смеси тромбопластина и ионов кальция. Определяли время от момента добавления тромбопластина и ионов кальция к исследуемой плазме до момента образования сгустка фибрина. Время образования сгустка фибрина зависит от активности факторов внешнего и общего путей свертывания (II, V, VII, X). Для этого 50 мкл исследуемой плазмы прогревали при температуре 37 °С в течение 1 мин, затем добавляли 100 мкл тромбопластин-кальциевой смеси и фиксировали время образования сгустка.

По результатам экспериментов статистически вычисляли среднее значение выборки и стандартную ошибку среднего. Использовали пакет программ STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc., США). Проверка нормальности распределения количественных признаков проведена с использованием критерия Шапиро – Уилка. Достоверность различий между группами оценивали по критерию Манна – Уитни. Различия считались достоверными при $p = 0.95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная реакция со спиртовым раствором калия гидроксида, известная как лактонная проба, дала положительный результат, что под-

at 37°C for 1 min, then 100 µl of a thromboplastin-calcium mixture was added, and the time of clot formation was noted.

Based on the results of the experiments, the mean value of the sample and the standard error of the mean were statistically calculated. We used STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Inc., USA). The normality of distribution of quantitative characteristics was evaluated using the Shapiro-Wilk test. The significance of differences between the groups was assessed by the Mann-Whitney test. The differences were significant at $p = 0.95$.

RESULTS AND DISCUSSION

The reaction with an ethanolic solution of potassium hydroxide, known as a coumarin test, gave a positive result, which confirmed the presence of substances of coumarin nature in the composition of *Nonea rossica* herb. Analysis of the obtained UV spectrum of extraction (Fig. 1) allowed us to conclude that 2-hydroxycinnamic acid was present in the extraction.

Indeed, the standard sample of 2-hydroxycinnamic acid has 2 characteristic minimal peaks (at 240 and 295 nm) and two maximal ones (at 266 and 311 nm), and the extraction under study also has two minimal peaks (at 241 and 297 nm) and two maximal ones (at 267 and 314 nm). The similarity of the spectra suggests, a precipitate obtained during the coumarin test sample, comprises 2-hydroxycinnamic acid, which was formed because of the alkaline hydrolysis of a coumarin nature substance (Fig. 2).

The content of 2-hydroxycinnamic acid, taking into account the mass of the resulting precipitate, was $0.7 \pm 0.1\%$.

To assess the anticoagulant activity, the method and frequency of drug administration were chosen – in our study, we took as a basis the patient information leaflet for warfarin, according to which for patients who had not taken the drug, the initial dose is 5 mg/day (2 tablets) during the first 4 days

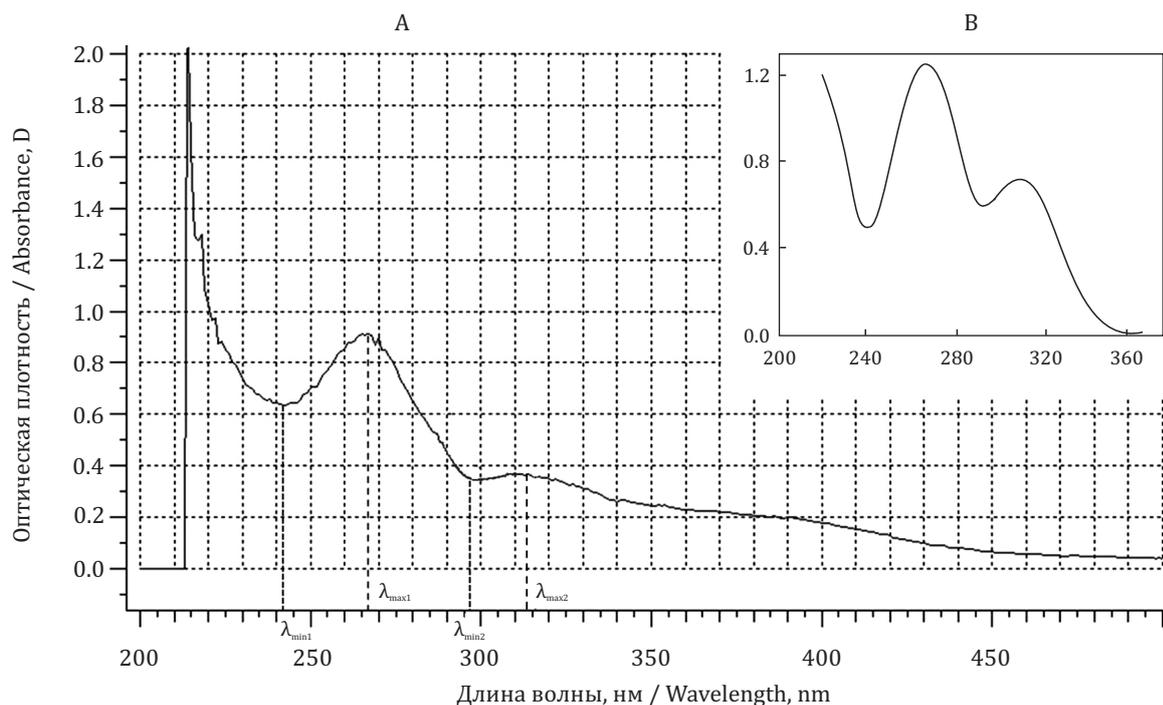


Рис. 1. УФ-спектр исследуемого раствора (А) и 2-гидроксикоричной кислоты (В) [13]
Fig. 1. The UV spectrum of the test solution (A) and 2-hydroxycinnamic acid (B) [13]

твердило присутствие в составе травы ноней русской веществ кумариновой природы. Анализ полученного УФ-спектра извлечения (рис. 1) позволил сделать вывод о наличии в извлечении 2-гидроксикоричной кислоты.

Действительно, стандартный образец 2-гидроксикоричной кислоты имеет 2 характерных минимума (при 240 и 295 нм) и два максимума (при 266 и 311 нм), а исследуемое извлечение также имеет два минимума (при 241 и 297 нм) и два максимума (при 267 и 314 нм). Близость спектров позволяет утверждать, что полученный в результате лактонной пробы осадок состоит из 2-гидроксикоричной кислоты, которая образовалась в результате щелочного гидролиза вещества кумариновой природы (рис. 2).

Содержание 2-гидроксикоричной кислоты с учетом массы полученного осадка составило $0.7 \pm 0.1 \%$.

of therapy. On the 5th day, the international normalized ratio (INR) is determined and, under this indicator, a maintenance dose of the drug is prescribed. In this experiment, we used the dose of warfarin in terms of weight (in kilograms) and considering the interspecies dose transfer coefficient [14]. During the study, it was found that PT in rats with the administration of warfarin at a dose of 0.215 mg/kg increases 2.5 times relative to the control values (Table 2).

After administration of a 10% infusion of *Nonea rossica* herb to animals at a dose of 1.7 g/kg once a day for 4 days, on the 5th day the anticoagulant activity of blood plasma did not change relative to the control values. This fact is explained by the absence of the coumarin fractions in the aqueous extraction, which are the leading inhibitors of the synthesis of coagulation factors (indirect-acting anticoagulants) of plant origin.

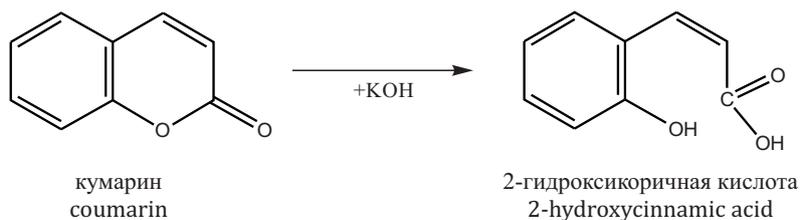


Рис. 2. Щелочной гидролиз кумарина
Fig. 2. Alkaline hydrolysis of coumarin

Таблица 2. Результаты протромбинового теста у крыс на 5-е сутки эксперимента
Table 2. Results of the prothrombin time test in rats on the 5th day of the experiment

Группа животных / Group of animals	Протромбиновое время, с Prothrombin time, s
Дистиллированная вода (контроль) / Distilled water (control)	13.63 ± 0.98
Водный экстракт травы нонеи русской / Aqueous extract of <i>Nonea rossica</i> herb	13.7 ± 0.85
Спиртовой экстракт травы нонеи русской / Ethanol extract of <i>Nonea rossica</i> herb	31.3 ± 1.27*
Варфарин / Warfarin	33.42 ± 1.33*

* Достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0.001$.* Significance of differences compared to the control $p < 0.001$.

Для оценки антикоагулянтной активности был выбран способ и кратность введения препаратов – в нашем исследовании мы взяли за основу инструкцию по применению варфарина, согласно которой для пациентов, не принимавших ранее препарат, начальная доза составляет 5 мг/сут (2 таблетки) в течение первых 4 дней терапии. На 5-й день лечения определяется международное нормализованное отношение (МНО) и, в соответствии с этим показателем, назначается поддерживающая доза препарата. В данном эксперименте мы использовали дозу варфарина в перерасчете на массу (в килограммах) и с учетом коэффициента межвидового переноса доз [14]. В ходе исследования установлено, что ПВ у крыс при введении варфарина в дозе 0.215 мг/кг увеличивается в 2.5 раза относительно контрольных значений (табл. 2).

После введения 10% настоя травы нонеи русской животным в дозировке 1.7 г/кг 1 раз в день в течение 4 дней на 5-е сутки антикоагулянтная активность плазмы крови не изменялась относительно контрольных значений. Данный факт объясняется отсутствием при водном способе экстрагирования фракции кумаринов в растворе, которые и являются ведущими ингибиторами синтеза факторов свертываемости крови (непрямыми антикоагулянтами) растительного происхождения.

Введение животным экстрактов, полученных при экстрагировании 70% этиловым спиртом в дозе 1.7 г/кг, продемонстрировало увеличение ПВ в 2.3 раза (по сравнению с контролем) и эквивалентное действие в сравнении с синтетическим препаратом сравнения – варфарином.

Установленная антикоагулянтная активность именно спиртового извлечения и отсутствия таковой у водного обусловлена гидрофобными свойствами кумаринсодержащих соединений и соответственно их отсутствием в водных растворах. Можно с высокой степенью вероятности предполагать наличие в составе нонеи русской

The administration to animals of extracts obtained by 70% ethyl alcohol extraction at a dose of 1.7 g/kg showed a 2.3-fold increase in PT (compared with the control) and an equivalent effect in comparison with the synthetic reference drug, warfarin.

The revealed anticoagulant activity specifically of ethanolic extraction and the absence of such in aqueous one is due to the hydrophobic properties of coumarin-containing compounds, and, hence, their absence in aqueous solutions. It is possible to assume with a high probability the presence of coumarin oxyderivatives in the composition of *Nonea rossica* (for example, 4-oxy-coumarin), which have possibilities to inhibit the synthesis of plasma proteins such as prothrombin, proconvertin, Christmas and Stuart factors in the liver. According to phytochemical study, coumarin or coumarin-like substances [15] (positive coumarin test) and their derivatives are present in the aboveground part of *Nonea rossica*, which inhibit the synthesis of vitamin K-dependent hemostatic plasma factors and exhibit the properties of an indirect anticoagulant.

During the administration of the extracts, the condition of the rats was satisfactory. The administration of drugs for 4 days did not lead to a significant change in body weight relative to the controls. The rats showed no signs of anxiety; no changes in appetite, secretions, the condition of mucous membranes, hair, skin were recorded.

CONCLUSION

The results obtained allow us to consider *Nonea rossica* Steven as a promising plant for introduction into medical practice as an indirect-acting anticoagulant agent.

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

оксипроизводных кумарина (например, 4-оксикумарина), которые обладают свойствами ингибировать в печени синтез белков плазмы крови протромбина, проконвертина, факторов Кристмаса и Стюарта. По данным фитохимического скрининга в надземной части нонеи русской присутствуют кумарин или кумариноподобные вещества [15] (положительная лактоная проба) и их дериваты, которые подавляют синтез К-витамин-зависимых плазменных факторов гемостаза и проявляют свойства непрямого антикоагулянта.

Во время введения экстрактов состояния крыс было удовлетворительным. Введение препаратов в течение 4 дней не привело к достоверному изменению массы тела относительно контрольной

группы животных. Крысы не проявляли признаков беспокойства, не было зафиксировано изменения аппетита, выделений, состояния слизистых, шерсти, кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют рассматривать нонею русскую в качестве перспективного растения для внедрения в медицинскую практику в качестве антикоагулянтного средства непрямого типа действия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуляихина Д.Е. Влияние варфарина, гепарина и новых пероральных прямых антикоагулянтов (дабигатрана этексилата, ривароксабана, аписабана) на уровень факторов свертывания: V, VII, VIII, IX, XII, WF // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2019;11(1):79-92. DOI: 10.17816/mechnikov201911179-92.
2. Бояринцев Д.И., Калинин Е.П., Ральченко И.В., Рудзевич Е.Л. Природные соединения с антикоагулянтным действием (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(2):3-10. DOI: 10.29296/25877313-2019-02-01.
3. Губаев А.Г. Фармакологические свойства антикоагулянта прямого действия из травы нонея темная: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Тюмень, 1996. 20 с.
4. Николаев Н.А., Ливазан М.А., Скирденко Ю.П., Мартынов А.И. Биологически активные растения и грибы Сибири в клинической медицине: в 2 т. / Омский гос. мед. ун-т. М.: Академия Естествознания, 2019. Т. 2. 382 с.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. Т. 4: Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. 630 с.
6. Mohammed H.M., Abdullah F.O. Microwave-assisted extraction and phytochemical profile of *Nonea pulmonarioides* and its antifungal, antibacterial, and antioxidant activities // J. Food Qual. 2022;2022:5135880. DOI: 10.1155/2022/5135880.
7. Altundag E., Ozturk M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey // Procedia – Social and Behavioral Sciences. 2011;19:756-777.
8. Imran M., Ullah F., Ayaz M. et al. Anticholinesterase and antioxidant potentials of *Nonea micrantha* Bioss. & Reut along with GC-MS analysis // BMC Compl. Alternat. Med. 2017;17(1):499. DOI: 10.1186/s12906-017-2004-9.
9. Флора СССР / Ботанический ин-т им. В.Л. Комарова АН СССР; гл. ред. акад. В.Л. Комаров. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. Т. 19. 751 с.

REFERENCES

1. Gulyaikhina D.E. The effect of warfarin, heparin, and modern directly acting oral anticoagulants (dabigatran etexilate, rivaroxaban, apixaban) on the level of coagulation factors: V, VII, VIII, IX, XII, WF. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2019;11(1):79-92. DOI: 10.17816/mechnikov201911179-92. (In Russ.)
2. Boyarintsev D.I., Kalinin E.P., Ralchenko I.V., Rudzевич E.L. Natural compounds with anticoagulant action (review). *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2019;22(2):3-10. DOI: 10.29296/25877313-2019-02-01. (In Russ.)
3. Gubaev A.G. (1996). Pharmacological properties of a direct-acting anticoagulant from *Nonea pulla* (L.) DC herb. Cand. Sci. (Med.) Thesis. Tyumen. 20 p. (In Russ.)
4. Nikolaev N.A., Livazan M.A., Skirdenko Yu.P., Martynov A.I. (2019). *Biologically Active Plants and Fungi of Siberia in Clinical Medicine*: in 2 volumes; Omsk State Medical University. Moscow: Academy of Natural Sciences. Vol. 2. 382 p. (In Russ.)
5. Budantsev A.L. (ed.) (2011). *Plant Resources of Russia: Wild Flowering Plants, Their Composition and Biological Activity*. St. Petersburg; Moscow. Vol. 4: Caprifoliaceae-Lobeliaceae Families. 630 p. (In Russ.)
6. Mohammed H.M., Abdullah F.O. Microwave-assisted extraction and phytochemical profile of *Nonea pulmonarioides* and its antifungal, antibacterial, and antioxidant activities. *J. Food Qual.* 2022;2022:5135880. DOI: 10.1155/2022/5135880.
7. Altundag E., Ozturk M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2011;19:756-777.
8. Imran M., Ullah F., Ayaz M. et al. Anticholinesterase and antioxidant potentials of *Nonea micrantha* Bioss. & Reut along with GC-MS analysis. *BMC Compl. Alternat. Med.* 2017;17(1):499. DOI: 10.1186/s12906-017-2004-9.
9. V.L. Komarov (chief ed.) (1953). *Flora of the USSR*; V.L. Komarov Botanical Institute of the USSR Academy of Sciences. Moscow; Leningrad: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR. Vol. 19. 751 p. (In Russ.)

10. Карташова М.Е., Величко В.В. Нонея русская – перспективное лекарственное растение // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сборник материалов IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Орехово-Зуево, 25 ноября 2022 г.). Орехово-Зуево, 2022. С. 118–121.
11. Olennikov D.N., Kartashova M.E., Velichko V.V., Kruglov D.S. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica* // Chemistry of Natural Compounds. 2022;58(6):1021-1025. DOI: 10.1007/s10600-022-03858-9.
12. Кубасова Е.Д., Корельская Г.В., Суханов А.Е. и др. Обнаружение и количественное определение кумаринов в растительном сырье любистока лекарственного, произрастающего в Архангельской области // Международный научно-исследовательский журнал. 2021;10-1(112):145-148/ DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.024.
13. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity // J. Environ. Qual. 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.
14. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 944 с.
15. Величко В.В., Карташова М.Е., Круглов Д.С. Фитохимическое и ботаническое исследование перспективного лекарственного растения *Nonea rossica* Steven // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.
10. Kartashova M.E., Velichko V.V. (2022). *Nonea rossica* is a promising medicinal plant. In *Prospects for the introduction of Innovative Technologies in Medicine and Pharmacy*: collection of proceeds of the IX All-Russian Scientific and Practical Conference with International participation (Orekhovo-Zuyevo, November 25, 2022). Orekhovo-Zuyevo, p. 118–121. (In Russ.)
11. Olennikov D.N., Kartashova M.E., Velichko V.V., Kruglov D.S. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2022;58(6):1021-1025. DOI: 10.1007/s10600-022-03858-9.
12. Kubasova E.D., Korelskaya G.V., Sukhanov A.E. et al. Detection and quantitative determination of coumarins in the plant raw materials of the medicinal plant growing in Arkhangelsk oblast. *International Research Journal*. 2021;10-1(112):145-148/ DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.024. (In Russ.)
13. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity. *J. Environ. Qual*. 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.
14. Mironov A.N., Bunyatyan N.D., Vasiliev A.N. et al. (2012). *Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines*. Moscow. Grif и К. 944 p. (In Russ.)
15. Velichko V.V., Kartashova M.E., Kruglov D.S. Phytochemical and botanical study of a promising medicinal plant *Nonea rossica* Steven. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Долганова Ольга Михайловна – канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Величко Виктория Владимировна – канд. фармацевт. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9224-9350

Карташова Марина Елвардовна – аспирант, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Ершов Константин Игоревич – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Круглов Дмитрий Семенович – канд. техн. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6027-5730.

ABOUT THE AUTHORS

Olga M. Dolganova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Medical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Victoria V. Velichko – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Head, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-9224-9350

Marina E. Kartashova – Post-Graduate Student, Lecturer, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Konstantin I. Ershov – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Dmitry S. Kruglov – Cand. Sci. (Tech.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-6027-5730.

Клинико-анамнестические факторы риска антенатальной смерти доношенного плода

Е.Л. Казачков, А.В. Чижовская, Э.А. Казачкова, Ю.А. Семенов

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

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . Существующие инструментальные и лабораторные методы оценки внутриутробного состояния плода являются косвенными и часто имеют низкую прогностическую значимость. Между тем определение факторов риска антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности с оценкой их прогностической значимости и возможной предотвратимости неблагоприятного перинатального исхода позволит выявить пути снижения уровня мертворождаемости потенциально жизнеспособных новорожденных.

Ц е л ь и с л е д о в а н и я . Определить клинико-анамнестические факторы риска антенатальной смерти доношенного плода на территории Челябинской области.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведен ретроспективный анализ медицинской документации всех случаев антенатальной смерти плода на сроке беременности 37 нед 0 дней – 41 нед 6 дней, зарегистрированных на территории Челябинской области с 2019 по 2021 г. Были выделены две группы: группа 1 – женщины с антенатальной смертью доношенного плода (158 пациенток), группа 2 – женщины со своевременными родами живым плодом (50 пациенток).

Р е з у л ь т а т ы . Женщины с антенатальной смертью доношенного плода статистически значимо чаще проживали в г. Челябинск и крупных городах Челябинской области, имели среднее специальное образование и курили табак; являлись первобеременными или повторнобеременными первородящими; у таких женщин статистически значимо чаще встречались воспалительные болезни женских тазовых органов, гипертоническая болезнь, заболевания эндокринной системы и специфические инфекционные заболевания (ВИЧ-инфекция, гепатит С и туберкулез). Беременность у таких женщин статистически значимо чаще осложнялась вызванной беременностью гипертензией без значительной протеинурии; сахарным диабетом, развившимся во время беременности; вызванными беременностью отеками; ложными схватками до 37 полных недель беременности; плацентарными нарушениями; недостаточным ростом плода, требующим предоставления медицинской помощи матери; острыми респираторными инфекциями. Непосредственное влияние на возникновение антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности оказывают следующие факторы: гипертоническая болезнь в анамнезе, умеренная преэклампсия, плацентарные нарушения и задержка роста плода, выявленные при беременности.

З а к л ю ч е н и е . При наличии факторов риска, непосредственно влияющих на возникновение антенатальной смерти доношенного плода, считаем целесообразным родоразрешение на сроке 37 недель 0 дней – 38 недель 0 дней беременности с целью снижения риска неблагоприятного исхода беременности.

Ключевые слова: антенатальная смерть доношенного плода, мертворождаемость, факторы риска перинатальной смерти, классификация причин антенатальной смерти.

Образец цитирования: Казачков Е.Л., Чижовская А.В., Казачкова Э.А., Семенов Ю.А. Клинико-анамнестические факторы риска антенатальной смерти доношенного плода // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):77-94. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-77-94

Поступила в редакцию 08.02.2023
Прошла рецензирование 03.11.2023
Принята к публикации 23.11.2023

Автор, ответственный за переписку
Чижовская Анна Валерьевна: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
E-mail: ms.chizhovskaya@mail.ru

Received 08.02.2023
Revised 03.11.2023
Accepted 23.11.2023

Corresponding author
Anna V. Chizhovskaya: South Ural State Medical University, 64, Vorovskogo str., Chelyabinsk, 454092, Russia.
E-mail: ms.chizhovskaya@mail.ru

Clinical and anamnestic risk factors for antenatal death of a full-term fetus

E.L. Kazachkov, A.V. Chizhovskaya, E.A. Kazachkova, Yu.A. Semenov

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Current clinical and laboratory methods for assessing the intrauterine growth of a fetus are indirect and often have a low prognostic significance. Meanwhile, the determination of risk factors of antenatal death of a full-term fetus with the assessment of their prognostic significance and the possible preventability of adverse perinatal outcome will identify ways to reduce the stillbirth rate.

A i m . Determine the clinical and anamnestic risk factors for antenatal death of a full-term fetus in the Chelyabinsk region.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A retrospective analysis of the medical records of all cases with antenatal fetal death at 37 weeks 0 days – 41 weeks 6 days of pregnancy, registered in the territory of the Chelyabinsk region from 2019 to 2021, was carried out. Two groups were assigned: group 1 – women with antenatal death of the full-term fetus (158 patients), group 2 – women with live full-term births (50 patients).

R e s u l t s . Women with antenatal death of the full-term fetus statistically significantly more often lived in the city of Chelyabinsk and big cities of the Chelyabinsk region, had secondary vocational education and used to smoke tobacco; they had first or second pregnancy and first delivery. Among these women, female pelvic inflammatory diseases, hypertension, endocrine system diseases and specific infectious diseases (HIV infection, hepatitis C and tuberculosis) were statistically more common. These women had statistically more pregnancy-related complications such as hypertension without significant proteinuria; diabetes mellitus arising in pregnancy; gestational edema; false labour up to 37 full weeks of pregnancy; placental disorders; maternal care for poor fetal growth; acute respiratory infections. The following factors have a direct impact on antenatal death at full-term pregnancy: a history of hypertension, moderate pre-eclampsia, placental disorders, and fetal growth retardation.

C o n c l u s i o n . In the presence of risk factors directly affecting the occurrence of antenatal death of a full-term fetus, we consider it appropriate to deliver at 37 weeks 0 days – 38 weeks 0 days of pregnancy in order to reduce the risk of an adverse outcome of pregnancy.

Keywords: antenatal death of a full-term fetus, stillbirth, risk factors for perinatal death, classification of antenatal death causes.

Citation example: Kazachkov E.L., Chizhovskaya A.V., Kazachkova E.A., Semenov Yu.A. Clinical and anamnestic risk factors for antenatal death of a full-term fetus. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):77-94. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-77-94

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе развития медицины проблема антенатальной охраны плода остается нерешенной. Разработанные инструментальные и лабораторные методы оценки состояния плода во время беременности являются косвенными, часто субъективными и порой низкочувствительными [1–3]. Как результат – ежегодный рост перинатальной заболеваемости и смертности, существенный вклад в которую вносит мертворождаемость. Так, на территории Российской Федерации в 2020 г. отмечен абсолютный прирост числа мертворожденных по сравнению с предыдущими годами: в 2019 г. – 8101 случай (мертворождаемость – 5.44 ‰), в 2020 г. – 8192 случая (мертворождаемость – 5.67 ‰) [4].

INTRODUCTION

At the present stage of the development of medicine, the problem of antenatal fetal protection remains unresolved. Conventional clinical and laboratory methods for assessing the intrauterine fetal growth are indirect, often subjective and sometimes of low sensitivity [1–3]. As a result, the annual growth of perinatal morbidity and mortality, a significant contribution to which is stillbirth. Thus, in the Russian Federation in 2020, an absolute increase in the number of stillbirths compared to previous years was noted: in 2019 – 8101 cases (stillbirth rate – 5.44 ‰), in 2020 – 8192 cases (stillbirth rate – 5.67 ‰) [4]. In the Chelyabinsk region there is a similar trend: in 2019, the number of stillbirths was 196 (stillbirth rate – 6.28 ‰), and in 2020 – 221 (stillbirth rate –

В Челябинской области наблюдается схожая тенденция: в 2019 г. число мертворожденных составило 196 (мертворождаемость – 6.28 ‰), а в 2020 г. – 221 (мертворождаемость – 6.8 ‰) [5]. Важно отметить, что в большинстве случаев плод погибает до начала родовой деятельности, при этом условно выделяют две критические точки во время беременности: на сроке 24 нед и после 39 нед [6]. Согласно литературным данным, в первом случае антенатальная смерть плода чаще всего наступает вследствие хромосомных аномалий, врожденных пороков развития и инфекционных заболеваний, во втором случае определить непосредственную причину затруднительно [7, 8]. Так, в Российской Федерации в 2020 г. в 4.7 % случаев мертворождаемости причина смерти не установлена [6].

В течение последних 10 лет наблюдается обострение демографического кризиса не только в Российской Федерации, но и в мире в целом. Отмечено, что наиболее высокие показатели мертворождаемости регистрируются в развивающихся странах (например, в Пакистане – 46 ‰, Нигерии – 42 ‰), низкие – в развитых странах, таких как Сингапур и Финляндия – 2 ‰ [6]. В Соединенных Штатах Америки данный показатель составляет 5.96 ‰ [8]. Снижение рождаемости и старение населения заставляет искать способы преодоления сложившейся ситуации не только путем стимулирования рождения двух и более детей в семье, но и определения причин «неблагоприятных» перинатальных исходов уже имеющейся беременности, особое внимание уделяется антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности.

В настоящее время проведено значительное количество исследований по изучению и анализу причин антенатальной смерти плода, в которых авторы бесспорно ставят на первое место группу острых антенатальных осложнений, а именно внутриутробную гипоксию плода, как основную (первоначальную) причину смерти плода (частота встречаемости, по данным разных авторов, варьирует от 80.5 до 88 %) [4, 8–14]. Далее данные разнятся в зависимости от страны, используемой классификации причин мертворождения, выбранной когорты исследуемых. Это связано с отсутствием единой международной дефиниции и классификации внутриутробной смерти плода. Так, в настоящее время насчитывается более 80 различных классификаций, при этом не все из них рассматривают причины именно антенатальной смерти плода, а в целом включают различные факторы

6.8 ‰) [5]. It is important to note that in most cases, a fetus dies before the onset of labour, while two critical points are conditionally distinguished during pregnancy: 24 weeks of pregnancy and after 39 weeks [6]. According to the literature, in the first case, the antenatal fetal death most often occurs due to chromosomal anomalies, congenital malformations and infectious diseases, in the second case, it is difficult to determine the immediate cause of death [7, 8]. So, in the Russian Federation in 2020, in 4.7 % of cases of stillbirth, the cause of death was not established [6].

Over the past 10 years, an aggravation of a demographic crisis has been observed not only in the Russian Federation, but also in the world as a whole. It is noted that the highest stillbirth rate are recorded in developing countries (for example, in Pakistan – 46 ‰, Nigeria – 42 ‰), the low ones – in developed countries, such as Singapore and Finland – 2 ‰ [6]. In the United States of America, this indicator is 5.96 ‰ [8]. A decrease in the birth rate and population ageing forces the ways to overcome the problem not only by stimulating the birth of two or more children in a family, but also to determine the causes of adverse perinatal outcomes. Special attention is paid to the antenatal fetal death at full-term pregnancy.

Currently, a lot of studies have been performed on the research and analysis of the causes of antenatal fetal death in which the authors, undoubtedly, put in the first place a group of acute antenatal complications, namely, intrauterine hypoxia as the main (initial) cause of fetal death (with the incidence, according to different sources, varying from 80.5 to 88%) [4, 8–14]. Next, the data vary depending on the country, the classification of the causes of stillbirth, and the selected study cohort. This is due to the lack of a unified international definition and classification of intrauterine fetal death. So, at present, there are more than 80 different classifications while not all of them consider the causes of antenatal death specifically, but generally include various factors of perinatal death [9, 15, 16]. The most widely used classification for national monitoring of perinatal mortality was developed in the UK – the CODAC system, which includes 94 subcategories coding causes and associated conditions of stillbirth [16].

In 2016, WHO issued recommendations on the use of the International Classification of Diseases to perinatal mortality (ICD-10) (ICD-PM) [13]. It is clear that the causes of ante-, intranatal and early neonatal death can overlap but at the same time they can have completely different triggers and development mechanisms. In the Russian Federation, the first place is occupied by intrauterine hypoxia (92%),

перинатальной смерти [9, 15, 16]. Наиболее широко используемая классификация для национального мониторинга перинатальной смертности была разработана в Великобритании – система CODAC, включающая 94 подрубрики, кодирующие причины и сопутствующие состояния мертворождения [16].

В 2016 г. ВОЗ выпустила рекомендации по применению международной классификации болезней (МКБ-10) к случаям смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС) [13]. Понятно, что причины анте-, интранатальной и ранней неонатальной смерти могут перекликаться, но в то же время они могут иметь совершенно разные пусковые факторы и механизмы развития. В Российской Федерации первое место занимает внутриутробная гипоксия плода (92 %), второе место – группа врожденных аномалий, деформаций и хромосомных нарушений (5.4 %), при этом наиболее часто отмечаются множественные пороки развития и пороки сердечно-сосудистой системы. На третьем месте находятся другие нарушения, возникающие в антенатальном периоде (2.6 %), включая эндокринные и метаболические осложнения перинатального периода [4, 14].

В 2018 г. В.Л. Коваленко и соавт. был проведен сравнительный анализ перинатальной смертности и ее возможной предотвратимости в городах-мегаполисах (Челябинск и Новосибирск) на основании Скандинавско-Балтийской классификации. В данном исследовании на первом месте оказалась антенатальная гибель плода без задержки внутриутробного роста и без врожденных пороков развития на сроке 28 нед беременности и более [15]. При этом, согласно классификации, данная категория относится к предотвратимым причинам смерти плода на современном этапе развития перинатальной медицины.

Важно отметить, что сама по себе антенатальная гипоксия плода является вторичной по отношению к плацентарным нарушениям [8]. Этот факт обосновывает необходимость выделения факторов риска антенатальной смерти на этапе прегравидарной подготовки и во время беременности. Согласно литературным данным, к наиболее частым «немедицинским» факторам риска относятся: неблагоприятные бытовые, социальные и психологические условия, возраст матери старше 30 лет, этническая принадлежность, низкий уровень образования, вредные условия труда и табакокурение. Среди «медицинских» выделяют: соматические заболевания женщины (чаще ожирение), индуцированную беременность, отягощенный акушерско-гинекологиче-

the second place is taken up by a the group of congenital anomalies, deformities and chromosomal disorders (5.4%), while the most often notes of multiple congenital anomalies and cardiovascular malformations. In the third place, there are other disorders that occur in the antenatal period (2.6%), including hormonal and metabolic complications of the perinatal period [4, 14].

In 2018, Kovalenko et al. performed a comparative analysis of perinatal mortality and its possible preventability in the metropolitan cities (Chelyabinsk and Novosibirsk) on the basis of the Scandinavian-Baltic classification. In this study, the antenatal fetal death without fetal growth retardation and congenital malformations at 28 weeks of pregnancy and more occupied the first place [15]. Moreover, according to the classification, this entity belongs to the preventable causes of fetal death at the present stage of the development of perinatal medicine.

It is important to note that antenatal fetal hypoxia itself is secondary in relation to placental disorders [8]. This fact justifies the need to determine the risk factors of antenatal death at the stage of preconception care and during pregnancy. According to the literature, the most common “non-medical” risk factors include: unfavorable living, social and psychological conditions, maternal age over 30 years, ethnicity, low level of education, hazardous working conditions and tobacco smoking. Among the “medical” risk factors are: somatic diseases of a woman (often obesity), pregnancy after assisted reproduction, positive obstetric-gynecological history [6, 10–12]. At the same time, in the study of Kurtser et al. (2011), considering intrauterine fetal hypoxia, which caused its death, it was noted that patients with this outcome did not reveal a significant frequency of extragenital or gynecological pathology. The leading position had chronic or acute placental disorders (fetal growth retardation, placental abruptio, uterine rupture) and pathology of the umbilical cord. Interestingly, in 4 % of cases, the cause of intrauterine hypoxia was not identified neither during pregnancy nor during a post mortem examination [17]. Moreover, in most studies there is no data on the degree of influence of the aforementioned factors on the unfavorable outcome of pregnancy – antenatal fetal death, and there is no unified risk scale for this complication

In 2018, Remneva et al. presented a prognostic scoring scale of antenatal fetal death at full-term pregnancy, in which such factors as specific chronic infections, young age, manual labour, infection of the genitourinary tract, arterial hypertension, smok-

ский анамнез [6, 10–12]. В то же время в исследовании М.А. Курцера и соавт. (2011), рассматривающих внутриутробную гипоксию плода, ставшую причиной его смерти, отмечено, что у пациентов с данным исходом не выявлена значимая частота экстрагенитальной или гинекологической патологии. Ведущее место занимают хронические или острые плацентарные нарушения (задержка роста плода, отслойка плаценты, разрыв матки) и патология пуповины. Интересно, что в 4 % случаев причина внутриутробной гипоксии плода не была выявлена ни во время беременности, ни при патологоанатомическом исследовании [17]. При этом в большинстве исследований отсутствуют данные о степени влияния выделенных факторов на неблагоприятный исход беременности – антенатальную смерть плода, и не существует единой шкалы риска данного осложнения.

В 2018 г. О.В. Ремневой и соавт. была представлена прогностическая балльная шкала риска антенатальной смерти плода на доношенном сроке, в которой выделены такие факторы, как специфические хронические инфекции, юный возраст, физический труд, инфекции урогенитального тракта, артериальная гипертензия, табакокурение, наличие вагинитов и вагинозов, многоводие. При этом наиболее значимыми из них авторы считают хронические специфические инфекции матери, такие как вирусные гепатиты, туберкулез и сифилис, оцениваемые в 4 балла, в то время как инфекции половых путей оценены лишь в 1 балл. Такое различие может быть связано с тем, что вагиниты и вагинозы являются легко диагностируемым и корригируемым фактором при грамотном ведении беременности в отличие от хронических инфекций. Интересно, что в представленной шкалеотягощенный акушерско-гинекологический анамнез не рассматривается как фактор риска в связи с недостаточным влиянием на перинатальный исход [1]. Сложно оценить прогностическую ценность разработанной шкалы и возможность ее применения повсеместно, учитывая региональные особенности, влияющие на течение беременности.

Таким образом, неоднозначные данные различных исследований по определению ведущих факторов риска антенатальной смерти плода, особенно на доношенном сроке беременности, обуславливают необходимость дальнейшего поиска и проведения анализа факторов риска с оценкой их прогностической значимости и возможной предотвратимости неблагоприятного перинатального исхода.

ing, the presence of vaginitis and vaginosis, and polyhydramnios are marked. In the meantime, the authors consider the most significant of them to be chronic specific infections of the mother, such as viral hepatitis, tuberculosis and syphilis which are estimated at 4 points, while genital tract infections are estimated at only 1 point. This difference may be due to the fact that vaginitis and vaginosis are an easily diagnosed and treatable factor with appropriate management of pregnancy, unlike chronic infections. Interestingly, in the presented scale, the positive obstetric-gynecological history is not considered as a risk factor due to insufficient effects on the perinatal outcome [1]. It is difficult to assess the prognostic value of the developed scale and the possibility of its widespread use, given the regional features affecting the course of pregnancy.

Thus, the ambiguous data of various studies on determining the leading risk factors of antenatal fetal death, especially at full-term pregnancy, necessitate further search and analysis of risk factors with an assessment of their prognostic significance and possible preventability of an adverse perinatal outcome.

AIM OF THE RESEARCH

To determine the clinical and anamnestic risk factors for antenatal death of a full-term fetus in the Chelyabinsk region.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective analysis of all cases of antenatal fetal death at 37 weeks 0 days – 41 weeks 6 days of pregnancy, registered in the Chelyabinsk region from 2019 to 2021, was carried out. Participants of the study were divided into two groups: group 1 – women with antenatal death of the full-term fetus (158 patients); group 2 – women with live full-term births (50 patients). The study is based on the analysis of the medical records: birth history (Form No. 096u), gravidity and parity history (Form No. 111/y-20), an autopsy report of the fetus, stillborn or live-born (Form 013/u), form No. 32 of Russian Statistics Committee.

Inclusion criteria for group 1: medical check-up for pregnancy in an antenatal clinic, the availability of medical records (birth history, gravidity and parity history, autopsy report of stillborn), antenatal fetal death at 37 weeks 0 days – 41 weeks 6 days of pregnancy.

Inclusion criteria for group 2: medical check-up for pregnancy in an antenatal clinic, the availability of medical records (birth history, gravidity and parity history), full-term delivery with a live fetus (37 weeks 0 days – 41 weeks 6 days).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить клинико-анамнестические факторы риска антенатальной смерти доношенного плода на территории Челябинской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ всех случаев антенатальной смерти плода на сроке беременности 37 нед 0 дней – 41 нед 6 дней, зарегистрированных на территории Челябинской области с 2019 по 2021 г. Для этого были выделены следующие группы: группа 1 – женщины с антенатальной смертью доношенного плода (158 пациенток); группа 2 – женщины со своевременными родами живым плодом (50 пациенток). Исследование основано на анализе данных медицинской документации пациенток: история родов (форма № 096у), индивидуальная карта беременной и родильницы (форма № 111/у-20), протокол патологоанатомического вскрытия плода, мертворожденного или новорожденного (форма 013/у), форма № 32 Росстата.

Критерии включения для группы 1: диспансерный учет по беременности в женской консультации, наличие медицинской документации (история родов, индивидуальная карта беременной и родильницы, протокол патологоанатомического вскрытия мертворожденного), антенатальная смерть плода на сроке беременности 37 нед 0 дней – 41 нед 6 дней.

Критерии включения для группы 2: диспансерный учет по беременности в женской консультации, наличие медицинской документации (история родов, индивидуальная карта беременной и родильницы, своевременные роды (37 нед 0 дней – 41 нед 6 дней) живым плодом.

Критерии невключения: срок беременности менее 37 нед и 42 нед и более, недоступность медицинской документации.

Статистический анализ проводили с помощью пакета статистических программ MedCalc (version 20.110, Бельгия, 2022). Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me; Q1–Q3), качественные данные описаны абсолютными и относительными частотами. Применяли критерии Манна – Уитни, χ^2 (хи-квадрат) Пирсона, Фишера. Для оценки влияния выявленных клинических факторов на возникновение антенатальной смерти доношенного плода использовали регрессионную модель пропорциональных рисков Кокса.

Exclusion criteria: gestational age <37 weeks and ≥ 42 weeks of pregnancy, unavailability of medical records.

A statistical analysis was performed using MedCalc software (Version 20.110, Belgium, 2022). Quantitative data are presented as a median and interquartile range (ME; Q1–Q3), qualitative data are described by absolute and relative frequencies. The Mann-Whitney, Pearson's chi-squared, Fisher's tests were used. To assess the influence of clinical factors identified on the occurrence of antenatal death of a full-term fetus, the Cox regression model was used.

RESULTS

An analysis of cases of antenatal death of a full-term fetus registered in the Chelyabinsk region in 2019–2021 showed that this complication most often occurred in group II of maternity hospitals: 30 cases (65.2%) in 2019, 47 (81%) in 2020 and 41 cases (69.5%) in 2021. In group I of health care facilities – 4 (8.7%), 2 (3.4%) and 1 (1.7%) cases, respectively, and in group III – 11 (26%), 9 (15.5%) and 17 (28.8%), respectively. In 2019 and 2020, antenatal fetal death at the level I of medical care was caused by premature separation of normally implanted placenta in 50% of cases, and in 2021 – in 100%.

Comparative social characteristics of female patients in the study groups are presented in Table 1.

As can be seen from Table 1, the age of all women in the study groups was reproductive – 31 (26–35) years in group 1 and 29 (24–34) years in group 2, without statistically significant differences. Patients with antenatal death of a full-term fetus were statistically significantly more likely to live in Chelyabinsk and big cities of the Chelyabinsk region, had secondary vocational education and were tobacco smokers.

The structure and incidence of somatic diseases in female patients of the study groups is presented in Table 2.

As follow from Table 2, in patients with antenatal fetal death, diseases characterized by high blood pressure (hypertension), endocrine diseases and specific infectious diseases (HIV infection, hepatitis C and tuberculosis) were statistically significantly more common. At the same time, endocrine diseases and specific infectious diseases were important in the totality, and not each disease separately.

Assessment of obstetric and gynecological data (Table 3) showed that women with antenatal death of a full-term fetus were statistically significantly more likely to be primigravidae or multigravidae pri-

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ случаев антенатальной смерти доношенного плода, зарегистрированных на территории Челябинской области в 2019–2021 гг., показал, что чаще всего данное осложнение встречалось во II группе учреждений родовспоможения: 30 случаев (65.2 %) в 2019 г., 47 (81 %) в 2020 г. и 41 случай (69.5 %) в 2021 г. В I группе медицинских организаций – 4 (8.7 %), 2 (3.4 %) и 1 (1.7 %) случай соответственно, а в III группе – 11 (26 %), 9 (15.5 %) и 17 (28.8 %) соответственно. В 2019 и 2020 г. антенатальная смерть плода на I уровне оказания медицинской помощи была обусловлена преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты в 50 % случаев, а в 2021 г. – в 100 %.

В табл. 1 представлена сравнительная социальная характеристика пациенток исследуемых групп.

Как видно из табл. 1, возраст всех женщин в исследуемых группах соответствовал репродуктивному – 31 (26–35) год в группе 1 и 29 (24–34) лет в группе 2, без статистически значимых различий. Пациентки с антенатальной смертью доношенного плода статистически значимо чаще проживали в Челябинске и крупных городах Челябинской области, имели среднее специальное образование и курили табак.

Структура и частота встречаемости соматических заболеваний у пациенток исследуемых групп представлена в табл. 2.

Как следует из табл. 2, у пациенток с антенатальной смертью плода статистически значимо чаще встречались болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением (гипертоническая болезнь), заболевания эндокринной системы и специфические инфекционные заболевания (ВИЧ-инфекция, гепатит С и туберкулез). При этом заболевания эндокринной системы и специфические инфекционные заболевания имели значение в совокупности, а не каждое заболевание в отдельности.

Оценка акушерско-гинекологического статуса (табл. 3) показала, что женщины с антенатальной смертью доношенного плода статистически значимо чаще являлись первобеременными или повторнобеременными первородящими. У таких женщин статистически значимо чаще встречались воспалительные болезни женских тазовых органов.

В соответствии с критериями включения все пациентки состояли на учете в женской консультации, анализ регулярности наблюдения не выявил значимых различий.

miparae. In these women, inflammatory diseases of female pelvic organs were statistically significantly more common.

In accordance with the inclusion criteria, all patients were registered and checked-up at the antenatal clinic. As analysis revealed, the regularity of follow-up did not differ significantly.

The analysis of the course of pregnancy in women of the study groups showed that statistically significant complications of pregnancy in case of antenatal death of a full-term fetus include: pregnancy-induced hypertension without significant proteinuria; diabetes mellitus arising in pregnancy; gestational edema; false labour before 37 completed weeks of pregnancy; placental disorders; maternal care for poor fetal growth, and diseases of the respiratory system complicating pregnancy (namely acute respiratory infection) (Table 4).

To assess the influence of the considered clinical factors on the occurrence of antenatal fetal death, the Cox regression model was used (Table 5).

According to the data from Table 5, in women with antenatal fetal death at full-term pregnancy, compared with women with full-time live births, strong risk factors influencing the occurrence of the studied outcome are a history of hypertension and moderate pre-eclampsia, placental disorders or fetal growth retardation detected during ongoing pregnancy. We constructed a plot of the dependence of survival of full-term fetuses on the delivery time in the presence of significant risk factors being revealed (Fig. 1).

This plot clearly shows a decrease in the survival of full-term fetuses when delivered at a later gestational age. Thus, with delivery at 37–38 weeks, the survival ranges from 80 to 100%, even in the presence of significant risk factors, and after 40 weeks of pregnancy, it is less than 40%.

DISCUSSION

Over the past 5 years, the analysis of the causes of antenatal death of a full-term fetus and the search for modifiable risk factors that directly determine the outcome of pregnancy have given not only medical and social, but also political and demographic significance. First, preventing antenatal fetal death at full-term pregnancy is considered as a reserve for reducing the stillbirth rate; secondly, the proportion of full-term fetuses that died *in utero* tends to steadily increase in the structure of perinatal mortality. Thus, according to Statistical Form No. 32, the proportion of antenatal death of full-term fetuses in the Chelyabinsk region in 2019 was 24.4% (48 cases), in 2020 – 26.2% (58 cases), and in 2021 – 29.4%

Таблица 1. Социальная характеристика пациенток исследуемых групп
Table 1. Social characteristics of female patients in the study groups

Показатель Parameter	Группа 1 / Group 1 (n = 158)		Группа 2 / Group 2 (n = 50)		p
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	
Возраст (лет), Me (Q1–Q3) / Age (years), Me (Q1–Q3)	31 (26–35)		29 (24–34)		0.420
Старше 30 лет / Over 30 years old	88	55.6	27	54.0	0.833
Проживание в сельской местности / Living in rural areas	37	23.4	13	26.0	0.710
Проживание в малых городах Челябинской области Living in towns of the Chelyabinsk region	1	0.6	19	38.0	<0.001
Проживание в крупных городах Челябинской области Living in big cities of the Chelyabinsk region	120	75.9	18	36.0	<0.001
Брак зарегистрирован / Registered marriage	108	68.3	40	80.0	0.114
Брак не зарегистрирован / Not registered marriage	35	22.1	6	12.0	0.116
Не замужем / Unmarried	15	9.4	4	8.0	0.749
Высшее образование / Higher education	42	26.5	19	38.0	0.123
Среднее специальное образование Secondary vocational education	89	56.3	20	40.0	0.044
Среднее общее образование / General secondary education	12	7.6	8	16.0	0.079
Основное общее образование / Basic education	15	9.4	3	6.0	0.444
Рабочая специальность / Trade job	11	6.9	2	4.0	0.451
Служащая / Employee	78	49.3	29	58.0	0.288
Домохозяйка / Housewife	63	39.8	17	34.0	0.457
Учащаяся / Student	6	3.8	1	2.0	0.540
Индивидуальный предприниматель / Self-employed	0	0.0	1	2.0	0.240
Табачокурение / Tobacco smoking	37	23.4	5	10.0	0.039
Наркотическая зависимость / Drug addiction	1	0.6	0	0.0	0.573
Русская / Russian	116	73.4	35	70.0	0.637
Татарка / Tatar	15	9.4	4	8.0	0.749
Казашка / Kazakh	0	0.0	1	2.0	0.240
Таджичка / Tajik	9	5.7	6	12.0	0.134
Узбечка / Uzbek	2	1.2	1	2.0	0.563
Башкирка / Bashkirian	13	8.2	3	6.0	0.607
Армянка / Armenian	3	1.9	0	0	>0.999

Анализ течения беременности у женщин исследуемых групп показал, что к статистически значимым осложнениям беременности при антенатальной смерти доношенного плода относятся: вызванная беременностью гипертензия без значительной протеинурии; сахарный диабет, развившийся во время беременности; вызванные беременностью отеки; ложные схватки до 37 полных недель беременности; плацентарные нарушения; недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери, и болезни органов дыхания, осложняющие беременность (а именно острая респираторная инфекция) (табл. 4).

Для оценки влияния рассматриваемых клинических факторов на возникновение антенатальной смерти плода была использована регрес-

(56 cases). This trend can be seen in the Russian Federation as a whole [18, 19].

Our analysis of available medical and social data revealed the following statistically significant risk factors: living in Chelyabinsk and big cities of the Chelyabinsk region; presence of secondary vocational education; presence of hypertension, endocrine diseases, several specific infections (HIV infection, hepatitis C and tuberculosis). The results obtained are consistent with the previous studies of risk factors for antenatal fetal death starting at 22 weeks of gestation. Thus, Sonchenko et al. (2017), Ivanova et al. (2020), Husak et al. (2020) also noted the contribution of low education level and tobacco smoking. Unfavorable living and psychological conditions, heavy manual labour can be considered as universal risk factors for antenatal fetal death at pre-

Таблица 2. Структура заболеваемости соматическими заболеваниями и частота их встречаемости у пациенток исследуемых групп**Table 2.** The structure and incidence of somatic diseases in female patients of the study groups

Показатель Category	Группа 1 / Group 1 (n = 158)		Группа 2 / Group 2 (n = 50)		p
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	
I10-I15. Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением I10-I15. Hypertensive diseases	14	8.8	0	0.0	0.020
I13.9. Гипертоническая болезнь I13.9. Hypertension	14	8.8	0	0.0	0.020
E00-E90. Болезни эндокринной системы E00-E90. Endocrine diseases	76	48.1	13	26.0	0.006
E66-E66.9. Ожирение E66-E66.9. Obesity	50	31.6	10	20.0	0.114
E10-E14. Сахарный диабет E10-E14. Diabetes mellitus	2	1.2	0	0.0	>0.999
E06.3. Аутоиммунный тиреоидит E02. Субклинический гипотиреоз вследствие йодной недостаточности E06.3. Autoimmune thyroiditis E02. Subclinical iodine-deficiency hypothyroidism	24	15.1	3	6.0	0.092
N10-N16. Тубулоинтерстициальные болезни почек N10-N16. Renal tubule-interstitial diseases	21	13.2	11	22.0	0.137
N20-N23. Мочекаменная болезнь N20-N23. Urolithiasis	2	1.2	0	0.0	>0.999
N11.0. Необструктивный хронический пиелонефрит N11.0. Nonobstructive reflux-associated chronic pyelonephritis	19	12.0	11	22.0	0.080
B18, B20-B24. Инфекционные заболевания B18, B20-B24. Infectious diseases	12	7.6	0	0.0	0.045
B20-B24. ВИЧ-инфекция B20-B24. HIV disease	9	5.7	0	0.0	0.085
B18.2. Хронический вирусный гепатит С B18.2. Chronic viral hepatitis C	3	1.9	0	0.0	>0.999
A15-A19. Туберкулез A15-A19. Tuberculosis	2	1.2	0	0.0	>0.999
I83. Варикозное расширение вен нижних конечностей I83. Varicose veins of lower extremities	9	5.7	4	8.0	0.558
H52.1. Миопия H52.1. Myopia	15	9.5	4	8.0	0.749
K20-K31. Болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки K20-K31. Diseases of esophagus, stomach and duodenum	9	5.7	1	2.0	0.288
K29.5. Хронический гастрит неуточненный K29.5. Chronic gastritis, unspecified	7	4.4	1	2.0	0.437
K28. Гастроэюнальная язва K28. Gastrojejunal ulcer	2	1.2	0	0.0	>0.999
J30-J47. Хронические болезни верхних и нижних дыхательных путей J30-J47. Chronic diseases of upper and lower respiratory tract	7	4.4	0	0.0	0.130
J45. Бронхиальная астма J45. Asthma	2	1.2	0	0.0	>0.999
J42. Хронический бронхит J42. Chronic bronchitis	2	1.2	0	0.0	>0.999
J35.0. Хронический тонзиллит J35.0. Chronic tonsillitis	3	1.9	0	0.0	>0.999
D50. Железодефицитная анемия D50. Iron deficiency anemia	70	44.3	22	44.0	0.970

Таблица 3. Акушерско-гинекологический анамнез у пациенток исследуемых групп
Table 3. Obstetric and gynecological history in patients of the study groups

Показатель Parameter, category	Группа 1 / Group 1 (n = 158)		Группа 2 / Group 2 (n = 50)		p
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	
Первобеременные / Primigravidae	65	41.1	12	24.0	0.029
Повторнобеременные и первородящие Multigravidae and primiparae	17	10.7	12	24.0	0.018
Повторнобеременные и повторнородящие Multigravidae and multiparae	76	48.2	26	52.0	0.631
Дебют сексуальной жизни (16 лет и менее) Sexual debut (16 years or younger)	37	23.4	10	20.0	0.615
N70-N77. Воспалительные болезни женских тазовых органов N70-N77. Inflammatory diseases of female pelvic organs	37	23.4	20	40.0	0.022
N72. Воспалительная болезнь шейки матки N72. Inflammatory disease of cervix uteri	27	17.0	14	28.0	0.091
N71. Воспалительная болезнь матки, кроме шейки матки N71. Inflammatory disease of uterus, except cervix	10	6.3	6	12.0	0.190
O03. Самопроизвольный аборт / O03. Spontaneous abortion	23	14.5	6	12.0	0.649
O04. Медицинский аборт / O04. Medical abortion	65	41.1	14	28.0	0.096
O02.0. Погибшее плодное яйцо / O02.0. Blighted ovum	7	4.4	5	10.0	0.141
O34.2. Послеоперационный рубец матки, требующий предоставления медицинской помощи матери O34.2. Maternal care due to uterine scar from previous surgery	36	22.7	12	24.0	0.859
N97. Бесплодие / N97. Infertility	9	5.7	3	6.0	0.936
Индукцированная беременность Pregnancy after assisted reproduction	2	1.2	2	4.0	0.244
O26.2. Медицинская помощь женщине с привычным невынашиванием беременности O26.2. Pregnancy care of habitual aborter	5	3.1	1	2.0	>0.999
D25. Лейомиома матки / D25. Leiomyoma of uterus	11	6.9	4	8.0	0.805

сионная модель пропорциональных рисков Кокса (табл. 5).

Согласно данным, представленным в табл. 5, у женщин, имеющих антенатальную смерть плода на доношенном сроке беременности, по сравнению с женщинами со своевременными родами живым плодом значимыми факторами риска, влияющими на возникновение изучаемого исхода, являются наличие гипертонической болезни в анамнезе и развитие умеренной преэклампсии, плацентарных нарушений или задержки роста плода, выявленные при настоящей беременности. Нами был построен график зависимости выживаемости плодов на доношенном сроке беременности от срока родоразрешения при наличии выявленных значимых факторов риска (рис. 1).

На данном графике четко прослеживается снижение выживаемости доношенных плодов при родоразрешении на более позднем сроке гестации. Так, при родоразрешении на сроке

term and full-term pregnancy [6, 11, 12]. Interestingly, our study did not show statistically significant differences for mother's age over 30 years and her ethnicity, although our sample was larger than in the abovementioned studies. Speaking about social aspects, it should be noted that, according to the literature, living in a city is one of the risk factors for antenatal fetal death [4], which is consistent with our data – 75.9% of women with antenatal death of the full-term fetus lived in cities of the Chelyabinsk region. Nadeev et al. (2010) presented opposite data: registered marriage and higher education are associated with antenatal death of a full-term fetus [20]. Interestingly, the risk factors also included the lack of regular job in patients with this outcome. This difference in the data obtained, in our opinion, is due to various conditions: sample size, regional peculiarities, time of the study. In addition, the abovementioned factors are nonspecific and can indirectly influence the development of many different conditions. It is worth noting that in their work, Pasternak,

Таблица 4. Осложнения беременности у пациенток исследуемых групп
Table 4. Complications of pregnancy in female patients of the study groups

Показатель Category	Группа 1 / Group 1 (n = 158)		Группа 2 / Group 2 (n = 50)		p
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	
О13. Вызванная беременностью гипертензия без значительной протеинурии / O13. Pregnancy-induced hypertension without significant proteinuria	25	15.8	0	0.0	0.002
О14.0. Преэклампсия средней тяжести O14.0. Moderate pre-eclampsia	6	3.7	0	0.0	0.163
О14.1. Преэклампсия тяжелая / O14.1. Severe pre-eclampsia	4	2.5	0	0.0	0.574
О24.4. Сахарный диабет, развившийся во время беременности O24.4. Diabetes mellitus arising in pregnancy	45	28.4	2	4.0	<0.001
О23.4. Инфекция мочевых путей при беременности неуточненная (бессимптомная бактериурия) O23.4. Unspecified infection of urinary tract in pregnancy (asymptomatic bacteriuria)	17	10.7	6	12.0	0.807
N70-N77. Воспалительные болезни женских тазовых органов N70-N77. Inflammatory diseases of female pelvic organs	28	17.7	6	12.0	0.341
N72. Воспалительная болезнь шейки матки N72. Inflammatory disease of cervix uteri	25	15.8	6	12.0	0.509
N71. Воспалительные болезни матки, кроме шейки матки N71. Inflammatory diseases of uterus, except cervix	3	1.9	0	0.0	>0.999
N89. Другие невоспалительные болезни влагалища N89. Other noninflammatory disorders of vagina	47	29.7	11	22.0	0.288
V37.3. Кандидоз вульвы и вагины V37.3. Candidiasis of vulva and vagina	25	15.8	7	14.0	0.756
N89.8. Бактериальный вагиноз / N89.8. Bacterial vaginosis	22	13.9	4	8.0	0.270
О21. Чрезмерная рвота беременных O21. Excessive vomiting in pregnancy	5	3.0	2	4.0	0.674
О99.0. Анемия, осложняющая беременность, деторождение и послеродовый период / O99.0. Anemia complicating pregnancy, childbirth and the puerperium	68	43.0	19	38.0	0.530
О12.0. Вызванные беременностью отеки O12.0. Gestational edema	24	15.1	2	22.0	0.037
О99.6. Болезни органов пищеварения, осложняющие беременность (гепатоз) / O99.6. Diseases of the digestive system complicating pregnancy (hepatosis)	2	1.2	0	0.0	>0.999
О47.0. Ложные схватки до 37 полных недель беременности O47.0. False labour before 37 completed weeks of gestation	68	43.0	13	26.0	0.031
О34.3. Истмико-цервикальная недостаточность, требующая предоставления медицинской помощи матери O34.3. Maternal care for cervical incompetence	5	3.1	0	0.0	0.340
О43. Плацентарные нарушения / O43. Placental disorders	58	36.7	2	4.0	<0.001
О36.5. Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери O36.5. Maternal care for poor fetal growth	22	13.9	0	0.0	0.005
О43. Плацентарные нарушения / O43. Placental disorders	19	12.0	0	0.0	0.010
О36.5. Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери O36.5. Insufficient fetal growth requiring maternal medical care	19	12.0	0	0.0	0.010
О42. Преждевременный разрыв плодных оболочек O42. Premature rupture of membranes	24	15.1	11	22.0	0.263
U07. Коронавирусная инфекция во время беременности U07. Coronavirus infection during pregnancy	4	2.5	0	0.0	0.574
О99.5. Болезни органов дыхания, осложняющие беременность (острые респираторные инфекции) O99.5. Diseases of the respiratory system complicating pregnancy (acute respiratory infections)	52	32.9	4	8.0	<0.001

Таблица 5. Оценка влияния клинических факторов на возникновение антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности**Table 5.** Assessment of the influence of clinical factors on the occurrence of antenatal fetal death at full-term pregnancy

Факторы риска Risk factors	B	Стандартная ошибка Standard error	T-уровень T-level	ОР (e ^B)	95% ДИ 95% CI	p
I13.9. Гипертоническая болезнь I13.9. Hypertensive heart and renal disease	0.63	0.28	5.13	1.89	1.09–3.28	0.023
O14.0. Преэклампсия средней тяжести O14.0. Moderate pre-eclampsia	0.90	0.42	4.51	2.47	1.07–5.71	0.033
O36.5. Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери O36.5. Maternal care for poor fetal growth	0.46	0.21	4.42	1.58	1.03–2.43	0.035
O43. Плацентарные нарушения O43. Placental disorders	0.43	0.19	5.14	1.54	1.06–2.26	0.023
Проживание в Челябинске Living in Chelyabinsk	0.04	0.22	0.04	1.04	0.67–1.62	0.838
Проживание в крупных городах Челябинской области Living in big cities of the Chelyabinsk region	0.12	0.22	0.32	1.13	0.73–1.75	0.569
Среднее специальное образование Secondary vocational education	0.14	0.17	0.61	1.15	0.81–1.63	0.432
E00-E90. Заболевания эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ E00-E90. Endocrine, nutritional and metabolic diseases	0.08	0.18	0.23	1.09	0.76–1.57	0.629
V18. Хронический вирусный гепатит V20-V24. Болезнь, вызванная ВИЧ V18. Chronic viral hepatitis V20-V24. HIV disease	0.62	0.32	3.63	1.86	0.98–3.54	0.056
Первобеременные Primigravidae	0.21	0.28	0.56	1.23	0.70–2.17	0.452
Повторнобеременные первородящие Multigravidae and primiparae	0.12	0.28	0.20	1.13	0.65–1.97	0.653
N71, N73. Воспалительные болезни женских тазовых органов N71, N73. Inflammatory diseases of female pelvic organs	-0.02	0.21	0.01	0.97	0.64–1.47	0.897
O13. Вызванная беременностью гипертензия без значительной протеинурии O13. Pregnancy-induced hypertension without significant proteinuria	0.31	0.24	1.54	1.36	0.83–2.22	0.213
O24.4. Сахарный диабет, развившийся во время беременности O24.4. Diabetes mellitus arising in pregnancy	0.24	0.19	1.52	1.27	0.86–1.89	0.216
O12.0. Вызванные беременностью отеки O12.0. Gestational edema	<0.01	0.25	<0.01	1.00	0.60–1.64	0.997
O47.0. Ложные схватки до 37 полных недель беременности O47.0. False labour before 37 completed weeks of gestation	0.04	0.20	0.05	1.04	0.69–1.56	0.821
O99.5. Болезни органов дыхания, осложняющие беременность (острые респираторные инфекции) O99.5. Diseases of the respiratory system complicating pregnancy (acute respiratory infections)	-0.02	0.18	0.01	0.98	0.68–1.41	0.913

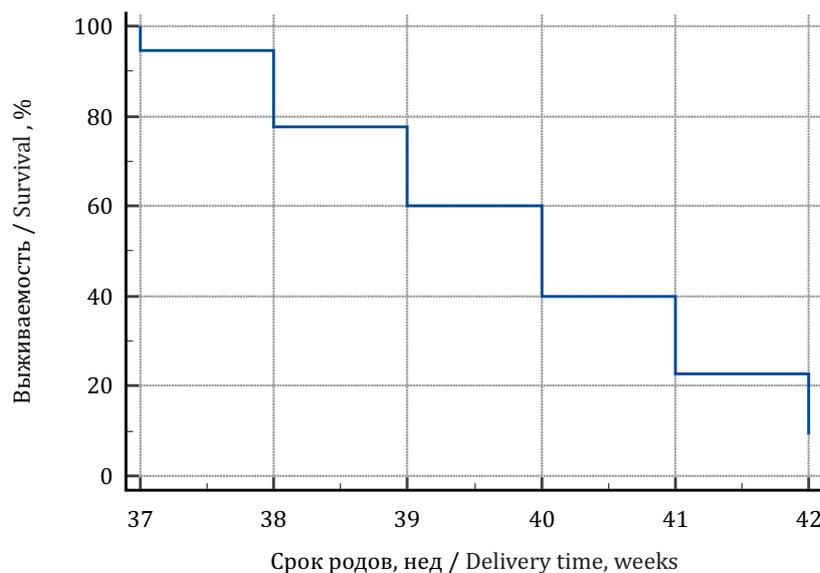


Рис. 1. График выживаемости плодов на доношенном сроке беременности при наличии значимых факторов риска антенатальной смерти плода в зависимости от срока родов

Fig. 1. Survival of full-term fetuses in the presence of significant risk factors for antenatal fetal death depending on the delivery time

37–38 нед выживаемость составляет от 80 до 100 % даже при наличии значимых факторов риска, а после 40 нед беременности – менее 40 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

В течение последних 5 лет анализ причин антенатальной смерти доношенного плода и поиск модифицируемых факторов риска, непосредственно обуславливающих данный исход беременности, приобрел не только медико-социальную, но и политико-демографическую значимость. Во-первых, предотвращение антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности рассматривается как резерв снижения уровня мертворождаемости; во-вторых, доля доношенных плодов, погибших внутриутробно, имеет тенденцию к стабильному росту в структуре перинатальной смертности. Так, согласно статистической отчетной форме № 32, доля антенатально погибших доношенных плодов в Челябинской области в 2019 г. составила 24.4 % (48 случаев), в 2020 г. – 26.2 % (58 случаев), а в 2021 г. – 29.4 % (56 случаев). Данная тенденция прослеживается и в целом по Российской Федерации [18, 19].

Проведенный нами анализ доступных медико-социальных характеристик выявил следующие статистически значимые факторы риска: проживание в Челябинске и крупных городах Челябинской области; наличие среднего специального образования; наличие гипертонической болезни,

Kovalenko (2009) have identified such pregnancy complications as anemia, hypertension in late pregnancy, and polyhydramnios being risk factors [21], which partly correlates with our data.

The presence of obesity as an underlying disease aggravating a health status which was identified by the abovementioned authors as a risk factor, did not have statistical significance in our study, as well as a positive obstetric and gynecological history, including infertility and recurrent miscarriage.

When comparing the risk factors we have identified with the risk factors presented in the risk scale for antenatal death of full-term fetuses developed by Remneva et al. (2018), we noted a coincidence in the presence of chronic specific infections, tobacco smoking, arterial hypertension and inflammatory diseases of female pelvic organs [1]. It is interesting that the presence of chronic specific infections had statistical significance as a totality (2 or more infections in one patient), and not each disease individually. Urinary tract infections were quite rare in our study and did not have statistical significance, while arterial hypertension and inflammatory diseases of female pelvic organs were the main significant anamnestic risk factors. Tobacco smoking in general is associated with the development of many pathological processes, and therefore is a low-specific risk factor.

Interestingly, no associations with the parity were found in any of the abovementioned studies. At the same time, Kovalenko et al. (2013) noted that more

заболеваний эндокринной системы; наличие нескольких специфических инфекций (ВИЧ-инфекция, гепатит С и туберкулез). Полученные результаты согласуются с проведенными ранее исследованиями факторов риска антенатальной смерти плода начиная с 22 нед беременности. Так, в исследованиях Е.А. Сонченко и соавт. (2017), И.И. Иванова и соавт. (2020), Ю.К. Гусак и соавт. (2020) также отмечен вклад низкого уровня образования и табакокурения. Неблагополучные бытовые и психологические условия, тяжелый физический труд можно рассматривать в качестве «универсальных» факторов риска антенатальной смерти плода как на доношенном сроке, так и на доношенном сроке беременности [6, 11, 12]. Интересно, что наше исследование не показало статистически значимых различий относительно возраста матери старше 30 лет и ее этнической принадлежности, хотя представленная нами выборка была шире, чем в вышеперечисленных исследованиях. Говоря о социальных аспектах, необходимо отметить, что, согласно литературным данным, проживание в городе является одним из факторов риска антенатальной смерти плода [4], что согласуется с полученными нами данными – 75.9 % женщин с антенатальной смертью доношенного плода проживали в крупных городах Челябинской области. В исследовании А.П. Надеева и др. (2010) приводятся противоположные данные: проживание в зарегистрированном браке и наличие высшего образования ассоциировано с антенатальной смертью доношенного плода [20]. Интересно, что к факторам риска также отнесено отсутствие постоянной работы у пациенток с данным исходом. Такая разница в полученных данных, на наш взгляд, обусловлена различными условиями: объемом выборки, региональными особенностями, временем проведения исследования. Кроме того, вышеперечисленные факторы являются неспецифичными и могут косвенно влиять на развитие множества разных процессов. Стоит отметить, что в работе А.Е. Пастернака, В.Л. Коваленко (2009) факторами риска названы такие осложнения беременности, как анемия, гипертензивные расстройства на поздних сроках беременности и многоводие [21], что отчасти коррелирует с нашими данными.

Наличие ожирения как основного заболевания, отягощающего соматический анамнез, которое определено вышеуказанными авторами как фактор риска, в нашем исследовании не имело статистической значимости, так же как и отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, в том числе бесплодие и привычное невынашивание.

than 50% of women with antenatal death of a full-term fetus were primigravidae or primiparae [22]. In our study, 55.6% of patients with antenatal death of a full-term fetus were primigravidae or multigravidae primiparae. Some authors noted that in primiparae, fetuses are most often born in a state of asphyxia [23], and in multiparae, fetuses are most often born with signs of hypoxic ischemic encephalopathy [24]. In our opinion, these complications are more associated with the intranatal period than with the antenatal one.

As for the complications during pregnancy, we identified the following: maternal – pregnancy-induced hypertension without significant proteinuria also comes to the fore, then diabetes mellitus arising in pregnancy, gestational edema, false labour before 37 completed weeks of pregnancy, and respiratory diseases, complicating pregnancy; fetal – placental disorders and maternal care for poor fetal growth. In the study by Seksenova et al. (2017) also, the leading place among the possible causes of antenatal fetal death is assigned to decompensated placental insufficiency [10]. Polyhydramnios which was noted by Remneva et al. (2018) did not have statistical significance in the study and practically did not occur in patients.

The study of Baev et al. (2022) showed the importance of the young age of pregnant women (under 20 years), presence of obesity, missed abortion and endometrial hyperplasia in a history [14]. In our study, the higher incidence of obesity (31.6%), diabetes mellitus (1.2%) and thyroid diseases (15.1%) in women with antenatal death of the full-term fetus were in the picture, while only presence of several endocrine diseases in one patient simultaneously had statistical significance.

Baev et al. (2022) also noted the significance of gestational diabetes mellitus and anemia. But after completing the analysis, the authors presented data on the low specificity of these risk factors, therefore their use for the purpose of the studied outcome prediction is inappropriate, while the timely diagnosis and treatment will be necessary to prevent ante- and intranatal fetal hypoxia [14].

In turn, in our study, all statistically significant risk factors were analyzed using the Cox regression model, which allowed us to prove the direct impact of hypertension in the history and moderate pre-eclampsia, placental disorders and fetal growth retardation, diagnosed during pregnancy, on the occurrence of antenatal fetal death at full-term pregnancy. According to the dependency plot between the survival of full-term fetuses and the delivery time (Fig. 1), it is possible to draw a conclusion about the

При сравнении выделенных нами факторов риска с факторами риска, представленными в шкале риска антенатальной смерти доношенных плодов, разработанной О.В. Ремневой и соавт. (2018), отмечено совпадение по наличию хронических специфических инфекций, табакокурения, артериальной гипертензии и воспалительных болезней женских тазовых органов [1]. Интересно, что наличие хронических специфических инфекций имело статистическую значимость в совокупности (2 инфекции и более у одной пациентки), а не каждое заболевание по отдельности. Инфекции мочевыводящих путей встречались достаточно редко у исследуемых нами пациенток и не имели статистической значимости, в то же время артериальная гипертензия и воспалительные болезни женских тазовых органов явились основными значимыми анамнестическими факторами риска. Табакокурение в целом связано с развитием множества патологических процессов, в связи с чем является низкоспецифичным фактором риска.

Интересно, что зависимости от паритета родов не было выявлено ни в одном из перечисленных исследований. Вместе с тем в работе В.Л. Коваленко и др. (2013) отмечено, что более 50 % женщин с антенатальной смертью доношенного плода были первобеременными или первородящими [22]. В нашем исследовании 55.6 % пациенток с антенатальной смертью доношенного плода были первобеременными или повторнобеременными первородящими. Некоторые авторы утверждают, что у первородящих женщин наиболее часто рождаются плоды в состоянии асфиксии [23], а у повторнородящих – с признаками гипоксически-ишемической энцефалопатии [24]. На наш взгляд, данные осложнения в большей степени связаны с интранатальным периодом, чем с антенатальным.

Что касается осложнений, выявленных во время беременности, то со стороны матери на первый план также выходит вызванная беременностью гипертензия без значительной протеинурии, затем сахарный диабет, развившийся во время беременности, вызванные беременностью отеки, ложные схватки до 37 полных недель беременности и болезни органов дыхания, осложняющие беременность, а со стороны плода – плацентарные нарушения и недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери. В исследовании А.Б. Сексеновой и др. (2017) также ведущее место среди возможных причин антенатальной смерти плода отведено декомпенсированной плацентарной недо-

appropriate date of delivery in the presence of risk factors which are identified in pregnancy. We believe that it is advisable for such patients have early elective delivery at 37 weeks 0 days to 38 weeks 0 days in the absence of indications for elective cesarean section.

CONCLUSION

The data obtained indicate the independent impact of a complex of risk factors (maternal hypertension, moderate pre-eclampsia and prenatal placental disorders and/or fetal growth retardation) on antenatal fetal death at full-term pregnancy. One of the main ways to prevent this outcome is a rational choice of term and mode of delivery. We consider it appropriate to deliver at 37 weeks 0 days – 38 weeks 0 days of pregnancy.

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

статочности [10]. Выделенное О.В. Ремневой и соавт. (2018) многоводие не имело в исследовании статистической значимости и практически не встречалось у пациенток.

Исследование О.Р. Баева и соавт. (2022) показало значимость юного возраста беременных женщин (моложе 20 лет), наличия ожирения, неразвивающейся беременности и гиперпластических процессов эндометрия в анамнезе [14]. В нашем исследовании это нашло отражение в большей частоте встречаемости ожирения (31.6 %), сахарного диабета (1.2 %) и заболеваний щитовидной железы (15.1 %) у женщин с антенатальной смертью доношенного плода, при этом статистическую значимость имело только наличие нескольких заболеваний эндокринной системы у одной пациентки.

О.Р. Баевым и соавт. (2022) также была отмечена значимость сахарного диабета, развившегося во время беременности, и анемии. Но после проведения анализа авторами были представлены данные о низкой специфичности данных факторов риска, в связи с чем использование их с целью прогнозирования нецелесообразно, в то время как их своевременная диагностика и коррекция будет необходимой профилактикой антенатальной гипоксии плода [14].

В свою очередь, в нашем исследовании все статистически значимые факторы риска были проанализированы с помощью регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, что

позволило нам доказать непосредственное влияние гипертонической болезни в анамнезе и умеренной преэклампсии, плацентарных нарушений и задержки роста плода, выявленных при беременности, на возникновение антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности. Согласно графику зависимости выживаемости доношенных плодов и срока родов (см. рис. 1), можно сделать вывод об оптимальном сроке родоразрешения при выявлении у пациентки указанных факторов риска во время беременности. Полагаем, что таким пациенткам целесообразно проводить программированные роды на сроке от 37 нед 0 дней до 38 нед 0 дней при отсутствии показаний к плановому родоразрешению путем операции кесарева сечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ремнева О.В., Ершова Е.Г., Чернова А.Е. и др. Антенатальная гибель доношенного плода: факторы риска, возможности телемедицины в ее прогнозировании // Современные проблемы науки и образования. 2018;5:38.
2. Захаренкова Т.Н., Санталова М.А. Клинико-морфологические параллели при антенатальной гибели плода // Проблемы здоровья и экологии. 2017;3(53):18-24.
3. Reddy U.M., Laughon S.K., Sun L. et al. Pregnancy risk factors for antepartum stillbirth in the United States // *Obstet. Gynecol.* 2010;116(5):1119-1126. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181f903f8.
4. Щеголев А.И., Туманова У.Н., Чаусов А.А., Шувалова М.П. Сравнительный анализ причин мертворождения в Российской Федерации в 2019 и 2020 годах // *Акушерство и гинекология.* 2022;2:80-90. DOI: 10.18565/aig.2022.2.80-90.
5. Челябинская область в цифрах, 2021 год / Территориальный орган Федеральной службы государственной статистики по Челябинской области. URL: https://chelstat.gks.ru/publication_collection/document/42480 (дата обращения: 14.03.2023).
6. Иванов И.И., Ляшенко Е.Н., Косолапова Н.В. и др. Антенатальная гибель плода: нерешенные вопросы // *Таврический медико-биологический вестник.* 2020;23(1):37-41. DOI: 10.37279/2070-8092-2020-23-1-37-41.
7. Man J., Hutchinson J.C., Ashworth M. et al. Stillbirth and intrauterine fetal death: contemporary demographic features of >1000 cases from an urban population // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2016;48(5):591-595. DOI:10.1002/uog.16021.
8. Pacora P., Romero R., Jaiman S. et al. Mechanisms of death in structurally normal stillbirths // *J. Perinat. Med.* 2019;47(2):222-240. DOI:10.1515/jpm-2018-0216.
9. Silver R.M., Varner M.W., Reddy U. et al. Work-up of stillbirth: a review of the evidence // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007;196(5):433-444. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.11.041.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о независимом влиянии совокупности факторов риска (гипертонической болезни в анамнезе у матери, развитие умеренной преэклампсии и пренатально диагностированных плацентарных нарушений и/или задержки роста плода) на антенатальную смерть плода на доношенном сроке беременности. Один из основных способов предотвращения данного исхода – это рациональный выбор срока и метода родоразрешения. Считаем целесообразным родоразрешение на сроке 37 нед 0 дней – 38 нед 0 дней беременности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Remneva O.V., Ershova E.G., Chernova A.E. et al. Antenatal death of a full-term fetus: risk factors, the possibility of telemedicine in its prediction. *Modern Problems of Science and Education.* 2018;5:38. (In Russ.)
2. Zakharenkova T.N., Santalova M.A. The clinical and morphological parallels in antenatal fetal death. *Health and Ecology Issues.* 2017;3(53):18-24. (In Russ.)
3. Reddy U.M., Laughon S.K., Sun L. et al. Pregnancy risk factors for antepartum stillbirth in the United States. *Obstet. Gynecol.* 2010;116(5):1119-1126. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181f903f8.
4. Shchegolev A.I., Tumanova U.N., Chausov A.A., Shuvalova M.P. Comparative analysis of stillbirth causes and rates in the Russian Federation in 2019 and 2020. *Obstetrics and Gynecology.* 2022;2:80-90. DOI: 10.18565/aig.2022.2.80-90. (In Russ.)
5. Chelyabinsk region in numbers, 2021. Federal State Statistics Service for the Chelyabinsk region. URL: https://chelstat.gks.ru/publication_collection/document/42480 (accessed 14.03.2023).
6. Ivanov I.I., Lyashenko E.N., Kosolapova N.V. et al. Antenatal fetal death: unsolved problems. *Taurichesky Medico-Biologicheskyy Vestnik.* 2020;23(1):37-41. DOI: 10.37279/2070-8092-2020-23-1-37-41. (In Russ.)
7. Man J., Hutchinson J.C., Ashworth M. et al. Stillbirth and intrauterine fetal death: contemporary demographic features of >1000 cases from an urban population. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2016;48(5):591-595. DOI:10.1002/uog.16021.
8. Pacora P., Romero R., Jaiman S. et al. Mechanisms of death in structurally normal stillbirths. *J. Perinat. Med.* 2019;47(2):222-240. DOI:10.1515/jpm-2018-0216.
9. Silver R.M., Varner M.W., Reddy U. et al. Work-up of stillbirth: a review of the evidence. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007;196(5):433-444. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.11.041.
10. Seksenova A.B., Buzumova Zh.O., Bazarbaeva Zh.U. et al. Antenatal fetus death: possible causes and analysis. *Vestnik KazNMU.* 2017;(3):9-11. (In Russ.)
11. Gusak Yu.K., Chikin V.G., Khovanov A.V. et al. Antenatal fetal death: clinical and biochemical parallels

10. Сексенова А.Б., Бузумова Ж.О., Базарбаева Ж.У. и др. Антенатальная гибель плода: возможные причины и анализ // Вестник КазНМУ. 2017;(3):9-11.
11. Гусак Ю.К., Чикин В.Г., Хованов А.В. и др. Антенатальная гибель плода: клинико-биохимические параллели и особенности родоразрешения // Главный врач Юга России. 2020;5(75):18-23.
12. Сонченко Е.А., Михельсон А.Ф., Лебеденко Е.Ю. «Загадочная» антенатальная гибель плода (обзор литературы) // Здоровье и образование в XXI веке. 2017;19(10):154-156.
13. Применение ВОЗ Международной классификации болезней (МКБ-10) к случаям смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС). Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2016. 80 с.
14. Баев О.Р., Приходько А.М., Зиганшина М.М. и др. Антенатальные и интранатальные факторы риска, ассоциированные с гипоксией плода в родах // Акушерство и гинекология. 2022;8:47-53. DOI: 10.18565/aig.2022.8.47-53.
15. Коваленко В.Л., Казачков Е.Л., Надеев А.П. и др. Предотвратимость перинатальных потерь в Челябинске и Новосибирске // Архив патологии. 2018;80(2):7-10. DOI: 10.17116/patol20188027-10.
16. Волков В.Г., Кастор М.В. Современные взгляды на проблему классификации и определения причин мертворождения // Российский вестник акушера-гинеколога. 2020;20(3):29-34. DOI: 10.17116/rosakush20202003129.
17. Курцер М.А., Кутакова Ю.Ю., Сонголова Е.Н. и др. Синдром внезапной смерти плода // Акушерство и гинекология. 2011;7(1):79-83.
18. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Намазова-Баранова Л.С. Смертность детского населения России: состояние, проблемы и задачи профилактики // Вопросы современной педиатрии. 2020;19(2):96-106. DOI: 10.15690/vsp.v19i2.2102.
19. Фролова О.Г., Паленая И.И., Шувалова М.П., Суханова Л.П. Региональные аспекты мертворождаемости в Российской Федерации в 2008 г. // Акушерство и гинекология. 2011;1:105-109.
20. Надеев А.П., Жукова В.А., Аксенова В.П. и др. Нозологическая структура смертности маловесных плодов в Новосибирске // Архив патологии. 2010;1:11-14.
21. Пастернак А.Е., Коваленко В.Л. Клинико-анатомическая характеристика структуры перинатальной смертности в Челябинской области // Актуальные вопросы патологической анатомии: материалы III Съезда Российского общества патологоанатомов. 2009;1:79-80.
22. Коваленко В.Л., Пастернак А.Е., Пастернак И.А. Клинико-патологоанатомический анализ перинатальной смертности – методологические и методические аспекты, направления совершенствования // Медицинская наука и образование Урала. 2013;4(76):86-90.
23. Locatelli A., Lambicchi L., Incerti M. et al. Is perinatal asphyxia predictable? // BMC Pregnancy Childbirth. 2020;20(1):186. DOI: 10.1186/s12884-020-02876-1.
24. Liljestrom L., Wikstrom A.K., Agren J., Jonsson M. Antepartum risk factors for moderate to severe neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: a Swedish national cohort study // Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2018;97(5):615-623. DOI: 10.1111/aogs.13316.
- and features of delivery. *Glavnyi Vrach Uga Russia*. 2020;5(75):18-23. (In Russ.)
12. Sonchenko E.A., Mikhelson A.F., Lebedenko E.Yu. “Mysterious” antenatal fetal death (literature review). *Health and Education Millennium*. 2017;19(10):154-156. (In Russ.)
13. The WHO application of ICD-10 to prenatal mortality deaths: ICD-PM (2016). World Health Organization. Geneva. 80 p.
14. Baev O.R., Prikhodko A.M., Ziganshina M.M. et al. Antenatal and intrapartum risk factors associated with fetal hypoxia in labor. *Obstetrics and Gynecology*. 2022;8:47-53. DOI: 10.18565/aig.2022.8.47-53. (In Russ.)
15. Kovalenko V.L., Kazachkov E.L., Nadeev A.P. et al. Preventability of perinatal losses by the example of the large industrial cities Chelyabinsk and Novosibirsk. *Archiv Pathologii*. 2018;80(2):7-10. DOI: 10.17116/patol20188027-10. (In Russ.)
16. Volkov V.G., Kastor M.V. Modern view of classification and determination of the causes of stillbirth. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2020;20(3):29-34. DOI: 10.17116/rosakush20202003129. (In Russ.)
17. Kurtser M.A., Kutakova Yu.Yu., Songolova E.N. et al. Sudden fetal death syndrome. *Obstetrics and Gynecology*. 2011;7(1):79-83. (In Russ.)
18. Baranov A.A., Albitskiy V.Yu., Namazova-Baranova L.S. Child mortality in Russia: situation, challenges and prevention aims. *Current Pediatrics*. 2020;19(2):96-106. DOI: 10.15690/vsp.v19i2.2102. (In Russ.)
19. Frolova O.G., Palenaya I.I., Shuvalova M.P., Sukhanova L.P. Regional aspects of stillbirth rates in the Russian Federation in 2008. *Obstetrics and Gynecology*. 2011;1:105-109. (In Russ.)
20. Nadeev A.P., Zhukova V.A., Aksенова V.P. et al. Nosological structure of mortality of low-weight fetuses in Novosibirsk. *Archiv Pathologii*. 2010;1:11-14. (In Russ.)
21. Pasternak A.E., Kovalenko V.L. Clinical and anatomical characteristics of the perinatal mortality structure in the Chelyabinsk region. Current issues in pathological anatomy: materials of the III Congress of the Russian Society of Pathologists. 2009;1:79-80.
22. Kovalenko V.L., Pasternak A.E., Pasternak I.A. Clinical and pathological analysis of perinatal mortality – methodological and methodical aspects, ways of improvement. *Medical Science and Education of Ural*. 2013;4(76):86-90. (In Russ.)
23. Locatelli A., Lambicchi L., Incerti M. et al. Is perinatal asphyxia predictable? *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020;20(1):186. DOI: 10.1186/s12884-020-02876-1.
24. Liljestrom L., Wikstrom A.K., Agren J., Jonsson M. Antepartum risk factors for moderate to severe neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: a Swedish national cohort study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 2018;97(5):615-623. DOI: 10.1111/aogs.13316.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniy L. Kazachkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, V.L. Kovalenko Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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

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

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

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

University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4512-3421.

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

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

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

Математическая модель прогнозирования риска аспиринорезистентности и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ИБС после коронарного шунтирования

Д.А. Ананьев¹, Г.И. Костюченко¹, А.В. Затеев², Г.В. Грибова², С.С. Лескова², Е.А. Субботин²

¹КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, Россия

²ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . После проведения операции коронарного шунтирования (КШ) в условиях искусственного кровообращения (ИК) остается нерешенной проблема профилактики тромбозов сосудистого шунта вследствие формирования феномена индуцированной аспиринорезистентности (Ар).

Ц е л ь . Изучить клиничко-лабораторные признаки, связанные с развитием Ар, а также оценить значение данного феномена в риске развития сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у пациентов с ИБС, оперированных методом КШ в условиях ИК, с помощью математического моделирования.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Висследование включено 260 мужчин в возрасте от 45 до 70 лет (58.2 ± 6.8 года) с диагнозом ишемической болезни сердца (ИБС) (стабильная стенокардия напряжения II–IV функционального класса (ФК) (234 чел.) и безболевого ишемия миокарда II–IV ФК (26 чел.)). Все пациенты получали стандартную терапию, включающую β-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, нитраты, статины и ацетилсалициловую кислоту (АСК). Реваскуляризация миокарда выполнена методом КШ в условиях ИК. Забор крови для оценки лабораторных факторов риска (ФР) Ар проводился на трех этапах: 1) на догоспитальном этапе – до операции КШ; 2) в раннем послеоперационном периоде – через 2 суток после КШ; 3) в отдаленном периоде – спустя 1 год после КШ. Все 260 пациентов в дооперационном периоде были исходно аспириночувствительными (АЧ). Активность системного воспалительного ответа на оперативное вмешательство оценивалась по концентрации интерлейкина-6 (ИЛ-6) и высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) в сыворотке крови, а степень выраженности эндотелиопатии – по уровню эндотелина-1 (ЭТ-1). Также исследовали агрегационную активность тромбоцитов (ААТ). К аспиринорезистентным (АР) пациентам мы относили тех лиц, у которых ААТ не достигала целевых значений на фоне приема АСК в дозе 100 мг/сут и снижалась менее чем на 50 % в сравнении с исходными параметрами. Для анализа влияния различных факторов (предикторов) на ААТ применялся метод линейного пошагового регрессионного анализа с включениями. Для оценки влияния Ар на риск развития ССО использовался метод бинарной логистической регрессии, для оценки связи клиничко-лабораторных предикторов с риском развития конкретных видов ССО – линейный дискриминантный анализ. В качестве ССО рассматривали: рецидив стенокардии, инфаркт миокарда (ИМ), декомпенсацию сердечной недостаточности (СН) и внезапную коронарную смерть.

Р е з у л ь т а т ы . Ар выявлена у 122 чел. (46.9 %) на 2-е сутки после КШ. Эта когорта пациентов выделена в основную группу. В группу сравнения вошли 138 чел. (53 %), у которых сохранилась аспириночувствительность (АЧ). Спустя год после оперативного вмешательства (на фоне приема АСК в дозе 100 мг/сут) доля АР пациентов уменьшилась до 62 чел., составив 24 % от исходных АЧ пациентов в дооперационном периоде. Было проведено сравнение в двух группах больных таких показателей, как ИЛ-6, вчСРБ, ЭТ-1, ААТ на всех трех этапах обследования, а время ИК и количество коронарных шунтов (кКШ) – непосредственно после выполнения КШ. В основной группе (АР пациенты) выявлены значительно более высокие показатели исследуемых параметров, чем в группе сравнения (статистически достоверные) как на 2-е сутки, так и спустя 1 год после проведения КШ. ССО выявлены у 53 из 260 чел. (20.4 %) при наблюдении в течение года. Они распределились следующим образом: рецидив стенокардии – 37 чел. (14.2 %); ИМ – 7 чел. (2.7 %); декомпенсация СН – 5 чел. (1.9 %); внезапная коронарная смерть – 4 чел. (1.5 %). Была разработана математическая модель для прогнозирования риска ССО после КШ с целью улучшения отдаленного прогноза после оперативного вмешательства. В результате регрессионного анализа нами была получена совокупность из пяти предикторов, статистически значимо связанных с ААТ: ЭТ-1, ИЛ-6, вчСРБ, время

Поступила в редакцию 09.06.2023
Прошла рецензирование 11.09.2023
Принята к публикации 01.10.2023

Автор, ответственный за переписку
Затеев Андрей Владимирович: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.
E-mail: drzav@mail.ru

Received 09.06.2023
Revised 11.09.2023
Accepted 01.10.2023

Corresponding author
Andrey V. Zateev: Altai State Medical University, 40, Lenina prosp., Barnaul, 656038, Russia.
E-mail: drzav@mail.ru

ИК, кКШ. Уравнение регрессии, позволяющее спрогнозировать значение ААТ на 2-е сутки после КШ, имело вид: $ААТ = 34.40 + 0.45 \cdot ИЛ-6 + 0.92 \cdot ЭТ1 + 0.25 \cdot \text{Время ИК} + 0.73 \cdot \text{вчСРБ} + 0.13 \cdot \text{кКШ}$, где 34.40 – свободный член уравнения.

Таким образом, по вычисленной величине ААТ можно будет судить о наличии либо Ач, либо Ар для конкретного индивидуума. При оценке взаимосвязи Ар с риском ССО у пациентов после КШ в условиях ИК методом бинарной логистической регрессии было определено, что ААТ является статистически значимым прогностическим фактором для ССО ($\chi^2 = 21.0$; $p = 0.013$). С помощью дискриминантного анализа создана математическая модель, позволяющая определить вероятность развития ССО определенных видов у пациентов после КШ в условиях ИК.

З а к л ю ч е н и е . Выраженность системного воспалительного ответа на КШ в условиях ИК влияет на развитие индуцированной Ар. Персистенция системной воспалительной реакции ассоциирована с пролонгацией Ар в отдаленном послеоперационном периоде. Регрессионный анализ выявил важную роль маркеров системного воспалительного ответа и эндотелиопатии (ИЛ-6, вчСРБ, ЭТ-1) в развитии феномена Ар у пациентов, перенесших операцию КШ в условиях ИК. Математическая модель, созданная при помощи дискриминантного анализа, с точностью прогноза 87 % позволяет предсказать вероятность развития ССО (рецидив стенокардии, ИМ, декомпенсация СН, внезапная коронарная смерть) у пациентов, перенесших операцию КШ в условиях ИК. К значимым факторам риска ССО относятся: длительность нахождения пациента в условиях ИК, величины ААТ, ИЛ-6, вчСРБ и ЭТ-1. Коррекция данных факторов позволит улучшить отдаленный прогноз после операции КШ у пациентов с ИБС.

Ключевые слова: коронарное шунтирование, аспиринорезистентность, провоспалительные цитокины, системный воспалительный ответ.

Образец цитирования: Ананьев Д.А., Костюченко Г.И., Затеев А.В., Грибова Г.В., Лескова С.С., Субботин Е.А. Математическая модель прогнозирования риска аспиринорезистентности и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ИБС после коронарного шунтирования // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):95-112. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-95-112

A mathematical model for predicting the risk of aspirin resistance and cardiovascular complications in patients with coronary artery disease after coronary bypass surgery

D.A. Ananiev¹, G.I. Kostyuchenko¹, A.V. Zateev², G.V. Gribova², S.S. Leskova², E.A. Subbotin²

¹Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia

²Altai State Medical University, Barnaul, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . After on-pump coronary artery bypass grafting (CABG) surgery, the problem of prevention of bypass graft thrombosis, following the development of the phenomenon of induced aspirin resistance (Ar) remains unresolved.

A i m . To study the clinical and laboratory signs associated with the development of Ar, as well as to assess the significance of this phenomenon in the risk of cardiovascular complications (CVC) in patients with coronary artery disease (CAD) which who underwent on-pump CABG surgery, using mathematical modeling.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A study included 260 men aged 45 to 70 years (58.2 ± 6.8 years) with a diagnosis of CAD (stable angina pectoris of II–IV functional class (FC) (234 people) and silent myocardial ischemia of II–IV FC (26 people)). All patients received conventional therapy, including beta-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, nitrates, statins and acetylsalicylic acid (ASA). Myocardial revascularization was performed by on-pump CABG. Blood sampling for the assessment of laboratory risk factors (RF) of Ar was carried out at three stages: 1) at the prehospital stage – before CABG; 2) at the early postoperative period – 2 days after CABG surgery; 3) in the long-term postoperative period – 1 year after CABG surgery. At baseline, during the preoperative period, all 260 patients were aspirin sensitive (AS). Systemic inflammatory response to surgical intervention was assessed by the level of interleukin-6 (IL-6) and highly sensitive C-reactive protein (HSRP) in the blood serum, and endotheliopathy was assessed by the level of endothelin-1 (ET-1). Platelet aggregation activity (PAA) was also studied. We classified as aspirin resistant (AR) patients, those individuals whose PAA did not reach target values while they were taking ASA at a dose of 100 mg/day, and decreased by less than 50% compared with the baseline parameters. To analyze the impact of various factors (predictors) on PAA, the linear stepwise regression analysis with inclusions was used. Binary logistic regression was used to assess the influence of Ar on the risk of developing CVC, and linear discriminant analysis – to assess the relationship of clinical and laboratory predictors with the risk of developing specific types of CVC. Recurrence of angina pectoris, myocardial infarction (MI), decompensation of heart failure (HF) and sudden cardiac death were considered as CVC.

R e s u l t s . Ar was detected in 122 people (46.9%) on the 2nd day after CABG. This cohort of patients constituted the main group. The comparison group included 138 people (53%) who remained aspirin sensitive (AS). A year after surgery (and taking ASA at a dose of 100 mg/day this year), the proportion of AR patients decreased to 62 people, amounting to 24% of AS patients at baseline in the preoperative period. In two groups of patients, we compared such indicators as IL-6, HSRP, ET-1, PAA at all three stages of the study, while the cardiopulmonary bypass time (CBT) and the number of coronary bypass grafts (NBGs) – immediately after the CABG. In the main group (AR patients), much higher levels of the studied parameters were revealed than in the comparison group (statistically significant) both on the 2nd day and 1 year after CABG. CVC were detected in 53 out of 260 people (20.4%) during one year follow-up. They were distributed as follows: recurrence of angina pectoris – 37 people (14.2%); MI – 7 people (2.7%); decompensation of HF – 5 people (1.9%); sudden cardiac death – 4 people (1.5%). A mathematical model was developed to predict the risk of CVC after CABG in order to improve the long-term prognosis after surgery. As a result of the regression analysis, we got a set of five predictors that are statistically significantly related to PAA: ET-1, IL-6, HSRP, CBT, NBGs. The regression equation, which allows predicting the value of PAA on the 2nd day after CABG, had the form: $PAA = 34.40 + 0.45 \cdot IL-6 + 0.92 \cdot ET-1 + 0.25 \cdot CBT + 0.73 \cdot HSRP + 0.13 \cdot NGBS$, where 34.40 is the absolute term of the equation.

Thus, according to the calculated PAA value, it will be possible to conclude the presence of either As or Ar for a particular individual. When assessing the relationship of Ar with the risk of CVC in patients after on-pump CABG, using binary logistic regression, it was determined that PAA is a statistically significant prognostic factor for CVC ($\chi^2 = 21.0$; $p = 0.013$). Using discriminant analysis, a mathematical model has been created to evaluate the probability of developing certain types of CVC in patients after on-pump CABG.

C o n c l u s i o n . The grade of systemic inflammatory response to on-pump CABG affects the development of induced Ar. The persistence of a systemic inflammatory reaction is associated with the prolongation of Ar in the long-term postoperative period. The regression analysis revealed an important role of systemic inflammatory response markers and endotheliopathy (IL-6, HSRP, ET-1) in the development of the phenomenon of Ar in patients undergoing on-pump CABG. The mathematical model, created by utilizing discriminant analysis, makes it possible to predict with the accuracy of 87% the probability of developing CVC (recurrence of angina pectoris, MI, decompensation of HF, sudden cardiac death) in patients who underwent on-pump CABG. Significant risk factors for CVC include: CBT, the levels of PAA, IL-6, HSRP and ET-1. Correction of these factors' parameters will improve the long-term prognosis in patients with CAD after CABG.

Keywords: coronary artery bypass grafting, aspirin resistance, proinflammatory cytokines, systemic inflammatory response.

Citation example: Ananiev D.A., Kostyuchenko G.I., Zateev A.V., Gribova G.V., Leskova S.S., Subbotin E.A. A mathematical model for predicting the risk of aspirin resistance and cardiovascular complications in patients with coronary artery disease after coronary bypass surgery. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):95-112. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-95-112

ВВЕДЕНИЕ

Искусственное экстракорпоральное кровообращение (ИК), безусловно, расширяет возможности кардиохирургических реконструктивных операций на коронарных артериях сердца, что позволяет проводить коронарное шунтирование (КШ) при любой локализации атеросклеротического поражения коронарных артерий и существенно улучшать качество и продолжительность жизни пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Однако, несмотря на достигнутые успехи в совершенствовании хирургических технологий проведения реваскуляризации миокарда, остается нерешенной проблема эффективной вторичной профилактики тромбоза сосудистого шунта и других осложнений [1].

Общепринятым стандартом вторичной профилактики тромбоза шунта, проводимой после КШ, является назначение ацетилсалициловой

INTRODUCTION

Cardiopulmonary bypass, of course, expands the possibilities of cardiac reconstructive operations involving coronary arteries, which allows to use coronary artery bypass grafting (CABG) for any localization of atherosclerotic damage to the coronary arteries and significantly improve the quality of life and life expectancy in patients with coronary artery disease (CAD). However, despite the advances in surgical technologies for myocardial revascularization, the problem of effective secondary prevention of bypass graft thrombosis and other complications remains unresolved [1].

The gold standard for secondary prevention of bypass graft thrombosis after CABG is the prescription of acetylsalicylic acid (ASA) [2]. However, some patients (45–60%), who underwent CABG surgery, turned out to be resistant to the disaggregation activity of ASA in the early postoperative period, and it is

кислоты (АСК) [2]. Однако часть пациентов (45–60 %), оперированных методом КШ, оказываются невосприимчивыми к дезагрегантному эффекту АСК в раннем послеоперационном периоде, причем известно, что это характерно только для лиц, оперированных в условиях ИК [3].

По данным ряда авторов формирование феномена аспиринорезистентности (Ар) сопряжено с повышенным риском тромбирования сосудистого трансплантата и более высокой смертностью пациентов [4–6]. Несмотря на публикацию значительного количества работ в этом направлении, причины и механизмы Ар остаются до конца не изученными.

В этой связи актуальным направлением в гематологии и сердечно-сосудистой хирургии является выявление клиничко-лабораторных предикторов, связанных с развитием Ар, а также оценка данного феномена в риске развития сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у пациентов с ИБС, оперированных методом КШ в условиях ИК [7, 8]. Выявление предикторов Ар является важным направлением в рамках мероприятий, направленных на профилактику этого феномена, способствующим снижению риска осложнений после КШ и улучшению прогноза после операции [9].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить клиничко-лабораторные признаки, связанные с развитием Ар, а также оценить данный феномен в риске развития ССО у пациентов с ИБС, оперированных методом КШ в условиях ИК, с помощью математического моделирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное одноцентровое сравнительное исследование.

Критерии включения в исследование:

- мужчины в возрасте до 70 лет;
- стабильная стенокардия напряжения II–IV функционального класса (ФК), подтвержденная ангиографией и положительными нагрузочными пробами;
- показания к коронарному шунтированию по данным коронароангиографии (КАГ);
- наличие информированного согласия на проведение исследования.

Критерии исключения из исследования: женский пол; перенесенный инфаркт миокарда менее 6 мес назад; перенесенное острое нарушение мозгового кровообращения менее 6 мес назад; наличие хронической сердечной недостаточности (СН) III–IV ФК по NYHA со снижением

known that this is typical only for individuals who underwent on-pump CABG [3].

According to several authors, the phenomenon of aspirin resistance (Ar) is associated with an increased risk of bypass graft thrombosis and a higher mortality level of patients [4–6]. Despite the publication of a significant number of works in this direction, the causes and mechanisms of Ar remain not fully studied.

In this regard, a relevant direction in hematology and cardiovascular surgery is the identification of clinical and laboratory predictors associated with the development of Ar, as well as the assessment of this phenomenon in the risk of cardiovascular complications (CVC) in patients with CAD after on-pump CABG [7, 8]. Identification of predictors of Ar is an important direction among of measures for preventing this phenomenon, contributing to reducing the risk of complications after CABG and improving the prognosis after surgery [9].

AIM OF THE RESEARCH

To study clinical and laboratory signs associated with the development of Ar, as well as to assess this phenomenon in considering the risk of developing CVC in patients with CAD after on-pump CABG using mathematical modeling.

MATERIALS AND METHODS

A prospective single-center comparative study was conducted.

Inclusion criteria:

- men under the age of 70;
- stable angina pectoris of functional class (FC) II–IV according to the results of angiography and positive exercise tolerance tests;
- eligibility for coronary artery bypass grafting according to coronary angiography (CAG);
- the presence of the signed informed consent to conduct participate in the study.

Exclusion criteria: female gender; myocardial infarction <6 months ago; acute cerebrovascular accident <6 months ago; chronic heart failure, NYHA III–IV with reduced left ventricular ejection fraction (LVEF) <40% according to the echocardiography results; atrial fibrillation; severe concomitant diseases that negatively affect the prognosis (chronic obstructive pulmonary disease, hepatic and renal failure, oncopathology); combination of CAD with valvular heart disease; Ar at baseline.

In 2014–2018 years, 260 men aged 45–70 years (58.2 ± 6.8 years) with a diagnosis of CAD (stable angina pectoris and silent myocardial ischemia) were examined on the basis of the Cardiac Surgery Department of the Regional Clinical Hospital (Barnaul).

фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) <40 % по результатам эхокардиографии; наличие фибрилляции предсердий; наличие тяжелых сопутствующих заболеваний, отрицательно влияющих на прогноз (хроническая обструктивная болезнь легких, печеночная и почечная недостаточность, онкопатология); сочетание ИБС с патологией клапанов сердца; исходная Ар.

В 2014–2018 гг. на базе кардиохирургического отделения КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул) обследовано 260 мужчин в возрасте 45–70 лет (58.2 ± 6.8 года) с диагнозом ИБС (стабильная стенокардия и безболевого ишемия миокарда). В данное исследование не были включены женщины в связи с малым количеством пациенток, которым было показано КШ. Стабильная стенокардия II ФК была диагностирована у 66 чел. (25 %), III ФК – у 116 (45 %), IV ФК – у 52 чел. (20 %). Безболевого ишемия миокарда была выявлена у 26 чел. (10 %). При исследовании ФВЛЖ были получены следующие результаты – снижение ФВЛЖ более 50 % выявлена у 50 % больных, ФВЛЖ от 40 до 50 % – у 38 % и ФВЛЖ от 30 до 40 % – у 12 % больных. По данным КАГ 146 пациентов (56 %) имели 2 пораженные артерии, 88 пациентов (34 %) – 3 и более стенозированные коронарные артерии, 26 пациентов (10 %) – 1 пораженную артерию со стенозом более чем 70 % просвета сосуда. Артериальная гипертензия была у 164 пациентов, атеросклероз артерий головного мозга – у 138 чел., атеросклероз артерий нижних конечностей – у 42 чел., ожирение – у 26 чел. Все пациенты получали стандартную терапию, включающую β -адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, нитраты, статины и АСК. Методом хирургического лечения была реваскуляризация миокарда – КШ в условиях ИК. Мы придерживались принципа достижения максимальной реваскуляризации миокарда и выполняли шунтирование всех стенозированных более чем на 70 % от просвета сосуда и диаметром не менее 1.5 мм коронарных артерий [10]. Длительность окклюзии аорты во время операции зависела от количества выполненных шунтов. При выполнении одного шунта время окклюзии аорты составило в среднем 11.2 ± 2.4 мин, двух шунтов – 26.5 ± 6.5 мин, трех шунтов – 40.3 ± 8.2 мин. Время ИК в группе Ар было 110.1 ± 15.4 мин, в группе аспириночувствительности (Ач) – 71.0 ± 6.8 мин. Среди всех 260 пациентов, подвергнутых КШ, ССО развились у 20.4 %. Этот уровень вероятности развития ССО рассматривали как априорный и в дальнейшем

Women were not included in this study due to the small number of patients who were eligible for CABG. Stable angina pectoris of FC II was diagnosed in 66 people (25%), FC III – in 116 (45%), FC IV – in 52 people (20%). Silent myocardial ischemia was diagnosed in 26 people (10%). While assessing the LVEF, the following results were obtained: LVEF decrease >50% was detected in 50%, from 40 to 50% – in 38%, and from 30 to 40% – in 12% of patients. According to the results of CAG, 146 patients (56%) had two affected arteries, 88 patients (34%) – three or more stenotic coronary arteries, 26 patients (10%) – single affected artery with stenosis >70% of the vessel lumen. Arterial hypertension had 164 patients, cerebral artery atherosclerosis – 138 people, lower extremity atherosclerosis – 42 people, obesity – 26 people. All patients received conventional therapy, including beta-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, nitrates, statins and ASA. The method of surgical treatment was myocardial revascularization – on-pump CABG. We adhered to the principle of achieving the maximal myocardial revascularization and performed bypass surgery of all coronary arteries with stenosis >70% and with a diameter of at least 1.5 mm [10]. The duration of aortic occlusion during surgery depended on the number of bypass grafts (NBGs). When performing one bypass graft, the aortic occlusion time averaged 11.2 ± 2.4 min, two bypass grafts – 26.5 ± 6.5 min, three bypass grafts – 40.3 ± 8.2 min. Cardiopulmonary bypass time (CBT) in the Ar group was 110.1 ± 15.4 min, in the aspirin sensitivity (As) group – 71.0 ± 6.8 min. Among all 260 patients undergoing CABG, CVC developed in 20.4%. This level of probability of CVC was considered as *a priori* and was later used to calculate the dependence of platelet aggregation activity (PAA) with the risk of CVC by binary logistic regression. The most significant CVC in the long-term postoperative period (1st year after CABG) were: recurrence of angina pectoris – 37 people (14.2%); myocardial infarction (MI) – 7 people (2.7%); decompensation of HF – 4 people (1.5%); sudden cardiac death – 4 people (1.5%). Blood sampling for the assessment of laboratory risk factors (RF) of Ar was carried out at three stages: 1) at the prehospital stage – before CABG; 2) in the early postoperative period – 2 days after CABG; 3) in the long-term period – 1 year after CABG.

To assess systemic inflammatory response in blood serum by the enzyme immunoassay using diagnostic kits from Peninsula Laboratories International, Inc. (USA), the concentrations of interleukin-6 (IL-6), highly sensitive C-reactive protein (HSRP) and endothelin-1 (ET-1) were determined.

использовали при расчете связи агрегационной активности тромбоцитов (ААТ) с риском развития ССО методом бинарной логистической регрессии. Наиболее значимыми ССО в отдаленном послеоперационном периоде (1-й год после КШ) были: рецидив стенокардии – 37 чел. (14.2 %); инфаркт миокарда (ИМ) – 7 чел. (2.7 %); декомпенсация СН – 4 чел. (1.5 %); внезапная коронарная смерть – 4 чел. (1.5 %). Забор крови для оценки лабораторных факторов риска (ФР) Ар проводился на трех этапах: 1) на догоспитальном этапе – до операции КШ; 2) в раннем послеоперационном периоде – через 2 сут после КШ; 3) в отдаленном периоде – через 1 год после КШ.

Для оценки активации системного воспалительного ответа в сыворотке крови иммуноферментным методом при помощи диагностических наборов фирмы Peninsula Laboratories International, Inc. (США) определяли концентрацию интерлейкина-6 (ИЛ-6), высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) и эндотелина-1 (ЭТ-1).

Исследование ААТ проводили с помощью четырехканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов CHRONO-LOG Aggregometers (США) по стандартной методике, описанной З.С. Баркаганом [11]. В качестве индуктора агрегации использовали раствор адреналина («Технология-Стандарт», Россия) в концентрации 10 мкг/мл, так как адреналин в сравнении с другими индукторами (АДФ и коллагеном) в большей степени отражает ЦОГ-1-зависимый путь активации тромбоцитов, который, как известно, избирательно блокируется препаратами группы АСК [10].

Аспиринчувствительными (АЧ) пациентами мы считали тех лиц, у которых регулярный прием АСК способствовал снижению ААТ на 50 % и более в сравнении с исходными значениями, что свидетельствовало об эффективности дезагрегантной профилактики. К Ар пациентам мы относили тех лиц, у которых ААТ на фоне приема АСК не достигала целевых значений и снижалась менее чем на 50 % в сравнении с исходными параметрами. Подобный подход в выявлении Ар описан рядом исследователей [11–13].

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России и соответствовало этическим нормам Хельсинкской декларации (2013). Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Для оценки связи изучаемых ФР с феноменом Ар по их влиянию на динамику ААТ применяли метод линейного пошагового регрессионного

PAA was determined using a four-channel configuration light transmission CHRONO-LOG aggregometer (USA) according to the conventional procedure described by Barkagan [11]. An epinephrine solution (Technology-Standard LTD, Russia) at a concentration of 10 µg/ml was used as an aggregation inducer, since epinephrine, in comparison with other inducers (ADP and collagen), largely reflects the COX-1-dependent pathway of platelet activation, which, as is known, is selectively blocked by drugs of ASA group [10].

We considered aspirin sensitive (AS) patients to be those individuals in whom regular intake of ASA contributed to a decrease in PAA by 50% or more in comparison with baseline values, which indicated the effectiveness of disaggregant prevention. We identified as AR patients those individuals in whom PAA did not reach the target values while taking ASA and decreased by less than 50% compared to the baseline parameters. A similar approach to the Ar detection has been described by a number of researchers [11–13].

The study was approved by the local Ethical Committee of the Altai State Medical University and complied with the ethical standards of the Helsinki Declaration (2013). All patients signed informed consent to take part in the study.

The linear stepwise regression analysis with inclusions was used to assess the relationship of the studied RFs with the phenomenon of Ar, based on their influence on the dynamics of PAA. To assess the Ar impact on the risk of CVC, binary logistic regression was used; and to assess the relationship of clinical and laboratory predictors with the risk of developing individual types of CVC linear discriminant analysis was used. Data processing and graphic presentation of the results were carried out using Statistica 10 and Excel 2007 programs.

RESULTS

Before surgery, all 260 people (100%) had As (PAA $35.4 \pm 3.3\%$) according to the study design. The levels of IL-6 (2.6 ± 0.3 pg/ml), HSRP (2.5 ± 0.3 mg/l), ET-1 (1.2 ± 0.2 fmol/ml) did not exceed the reference values, and platelet count was 182.9 ± 14.0 thousand/ml, which also corresponded to the reference value.

At the second stage of the study (2nd day after CABG), in 122 people (47%) Ar was detected by changes in the level of PAA level in comparison with the baseline value (PAA 65.6 ± 7.2 vs $35.4 \pm 3.3\%$; $p < 0.001$). This cohort of patients constituted the main group. The comparison group included 138 people (53%) in whom As remained (PAA

анализа с включениями. Для оценки влияния Ар на риск развития ССО использовали метод бинарной логистической регрессии, для оценки связи клинико-лабораторных предикторов с риском развития конкретных видов ССО – линейный дискриминантный анализ. Обработку данных и графическое представление результатов проводили с помощью компьютерных программ Statistica 10 и Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ

До оперативного вмешательства у всех 260 чел. (100 %) была исходная АЧ (ААТ 35.4 ± 3.3 %) по условию дизайна исследования. Уровни ИЛ-6 (2.6 ± 0.3 пг/мл), вЧСРБ (2.5 ± 0.3 мг/л), ЭТ-1 (1.2 ± 0.2 фмоль/мл) не выходили за рамки референсных значений, а уровень тромбоцитов составлял 182.9 ± 14.0 тыс./мкл, что тоже соответствовало нормальным показателям.

На втором этапе исследования (2-е сутки после КШ) у 122 чел. (47 %) была выявлена Ар по изменению уровня ААТ в сравнении с исходным значением (ААТ 65.6 ± 7.2 vs 35.4 ± 3.3 %; $p < 0.001$). Эта когорта пациентов была выделена в основную группу. В группу сравнения вошли 138 чел. (53 %), у которых сохранялась АЧ (ААТ 40.6 ± 3.5 vs 35.4 ± 3.3 %; $p > 0.05$). Различия в уровне ААТ между группами Ар и АЧ были статистически значимыми на 2-е сутки после КШ (65.6 ± 7.2 vs 40.6 ± 3.5 % соответственно; $p < 0.001$) (табл. 1).

В обеих исследуемых группах – основной (Ар) и сравнения (АЧ) – отмечен значительный рост концентрации в крови ИЛ-6 на 2-е сутки после операции (23.0 ± 3.6 и 12.1 ± 3.7 vs 2.6 ± 0.3 пг/мл; $p < 0.001$, $p < 0.01$ соответственно). При этом в основной группе среднее значение ИЛ-6 было достоверно выше, чем в группе сравнения (23.0 ± 3.6 vs 12.1 ± 3.7 пг/мл; $p = 0.043$). Также в обеих группах был значительно более высокий уровень вЧСРБ в крови по сравнению с исходным (20.0 ± 3.3 и 11.2 ± 2.7 vs 2.5 ± 0.3 мг/л; $p < 0.001$, $p < 0.01$ соответственно), но в основной группе вЧСРБ существенно превышал таковой в группе сравнения (20.0 ± 3.3 vs 11.2 ± 2.7 ; $p = 0.042$). Сравнительный анализ уровня ЭТ-1 в группах Ар и АЧ на 2-е сутки показал, что в обеих группах он был выше исходного значения (15.8 ± 3.5 и 7.1 ± 2.4 vs 1.2 ± 0.2 фмоль/л; $p < 0.005$, $p < 0.01$ соответственно), и в группе Ар данный показатель был статистически значимо выше, чем в группе АЧ (15.8 ± 3.5 vs 7.1 ± 2.4 фмоль/л; $p = 0.040$). Количество тромбоцитов в циркулирующей крови на 2-е сутки увеличилось за счет

40.6 ± 3.5 vs 35.4 ± 3.3 %; $p > 0.05$). Differences in the level of PAA between the AR and AS groups were statistically significant on the 2nd day after CABG surgery (65.6 ± 7.2 vs 40.6 ± 3.5 %, respectively; $p < 0.001$) (Table 1).

In both groups, the main (AR) and comparison (AS), there was a significant increase in the concentration of IL-6 in the blood on the 2nd day after surgery (23.0 ± 3.6 and 12.1 ± 3.7 vs 2.6 ± 0.3 pg/ml; $p < 0.001$, $p < 0.01$, respectively). At the same time, in the main group, the average value of IL-6 was significantly higher than in the comparison group (23.0 ± 3.6 vs 12.1 ± 3.7 pg/ml; $p = 0.043$). Also, in both groups, there was a significantly higher level of HSRP in the blood compared to the baseline level (20.0 ± 3.3 and 11.2 ± 2.7 vs 2.5 ± 0.3 mg/l; $p < 0.001$, $p < 0.01$, respectively), but in the main group, HSRP significantly exceeded that in the comparison group (20.0 ± 3.3 vs 11.2 ± 2.7 ; $p = 0.042$). A comparative analysis of the ET-1 level in the AR and AS groups on 2nd day showed that in both groups, it was higher than the baseline level (15.8 ± 3.5 and 7.1 ± 2.4 vs 1.2 ± 0.2 fmol/l; $p < 0.005$, $p < 0.01$, respectively), and in the AR group this indicator was statistically significantly higher than in the AS group (15.8 ± 3.5 vs 7.1 ± 2.4 fmol/l; $p = 0.040$). The platelet count on 2nd day increased due to compensatory thrombocytosis in both groups – in the main group to 445.9 ± 35.0 , and in the comparison group to 472.2 ± 32.1 thousand/ml, which was statistically significantly more than before surgery (182.9 ± 14.0 thousand/ml; $p < 0.005$, $p < 0.01$, respectively). The groups did not differ from each other in this indicator (445.9 ± 35.0 vs 472.2 ± 32.1 , respectively; $p = 0.956$).

At the third stage of the study (1 year after surgery while taking ASA at a dose of 100 mg/day), the proportion of AR patients decreased from 122 to 62 people, amounting to 24% of the AS patients in the preoperative period. In 198 (76%) AS patients, the average values of PAA (34.2 ± 3.2 %) reached the target values and virtually did not differ from the baseline values (35.4 ± 3.3 %) in the preoperative period ($p > 0.05$). In this group, the levels of IL-6, HSRP and ET-1 also decreased to the baseline values and did not differ significantly from them.

On the contrary, in the AR group, the average values of PAA were elevated relative to the preoperative values (64.1 ± 7.0 vs 35.4 ± 3.3 %; $p < 0.01$). The concentration of IL-6, HSRP and ET-1 tended to decrease, but did not reach the baseline values, and was elevated relative to the preoperative level (5.70 ± 0.62 vs 2.6 ± 0.3 pg/ml, $p < 0.05$; 8.10 ± 1.40 vs 2.5 ± 0.3 mg/ml, $p < 0.02$; 9.8 ± 3.2 vs $1.2 \pm$

Таблица 1. Сравнительный анализ клинико-лабораторных параметров групп АЧ и АР пациентов на этапах исследования**Table 1.** Comparative analysis of clinical and laboratory parameters of AS and AR patients at stages of the study

Параметры Parameters	До операции Before surgery	2-е сутки после операции 2nd day after surgery		p_{2-3}	1 год после операции 1 year after surgery		p_{4-5}
	АЧ / AS $n = 260$	АЧ / AS (группа сравнения / comparison group) $n = 138$	АР / AR (основная группа / main group) $n = 122$		АЧ / AS (группа сравнения / comparison group) $n = 198$	АР / AR (основная группа / main group) $n = 62$	
		1	2		3	4	
ААТ / PAA (%)	35.4 ± 3.3	40.6 ± 3.5	65.6 ± 7.2*	<0.001	34.2 ± 3.2	64.1 ± 7.0*	<0.001
ИЛ-6 (пг/мл) IL-6 (pg/ml)	2.6 ± 0.3	12.1 ± 3.7*	23.0 ± 3.6*	0.043	2.90 ± 0.53	5.70 ± 0.62*	0.024
вчСРБ (мг/л) HSRP (mg/l)	2.5 ± 0.3	11.2 ± 2.7*	20.0 ± 3.3*	0.042	3.20 ± 1.70	8.10 ± 1.40*	0.018
ЭТ-1 (фмоль/мл) ET-1 (fmol/ml)	1.2 ± 0.2	7.1 ± 2.4*	15.8 ± 3.5*	0.040	0.83 ± 0.21	9.8 ± 3.2*	<0.001
Тромбоциты (тыс./мкл) Platelets (thousand/ml)	182.9 ± 14.0	472.2 ± 32.1*	445.9 ± 35.0*	0.956	257.5 ± 22.6*	267.8 ± 28.9*	0.968
Время ИК (мин) CBT (min)	-	71.0 ± 6.8	110.1 ± 15.4	0.001	-	-	-
кКШ / NBGs	-	2.1 ± 0.2	3.2 ± 0.3	0.022	-	-	-

П р и м е ч а н и я : АЧ – аспиринчувствительные пациенты; АР – аспиринрезистентные пациенты; ААТ – агрегационная активность тромбоцитов; ИЛ-6 – интерлейкин-6; вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ЭТ-1 – эндотелин-1; ИК – искусственное кровообращение; кКШ – количество коронарных шунтов.

* Разница статистически достоверна по сравнению с исходным значением (группа АЧ до операции).

Н о т е : AS – aspirin sensitive patients; AR – aspirin resistant patients; PAA – platelet aggregation activity; IL-6 – interleukin-6; HSRP – highly sensitive C-reactive protein; ET-1 – endothelin-1; CBT – cardiopulmonary bypass time; NBGs – number of bypass grafts.

* The difference is statistically significant compared to the baseline value (the AS group before the surgery).

компенсаторного тромбоцитоза в обеих группах – в основной до 445.9 ± 35.0, а в группе сравнения до 472.2 ± 32.1 тыс./мкл, что было статистически значимо больше, чем до операции (182.9 ± 14.0 тыс./мкл; $p < 0.005$, $p < 0.01$ соответственно). Между собой по данному показателю группы не различались (445.9 ± 35.0 vs 472.2 ± 32.1 соответственно; $p = 0.956$).

На третьем этапе исследования (спустя 1 год после оперативного вмешательства на фоне приема АСК в дозе 100 мг/сут) доля АР пациентов уменьшилась с 122 до 62 чел., составив 24 % от исходных АЧ пациентов в дооперационном периоде. У 198 (76 %) АЧ пациентов средние значения ААТ (34.2 ± 3.2 %) приблизились к целевым значениям и практически не отличались от исходных показателей ААТ (35.4 ± 3.3 %) предоперационного периода ($p > 0.05$). В данной группе уровни ИЛ-6, вчСРБ и ЭТ-1 также снижались до исходных значений и статистически достоверно не отличались от них.

± 0.2 fmol/ml, $p < 0.01$, respectively). Statistically significant differences in PAA, IL-6, HSRP and ET-1 between groups of AR and AS patients remained one year after surgery (64.1 ± 7.0 vs 34.2 ± 3.2, $p < 0.001$; 5.70 ± 0.62 vs 2.90 ± 0.53, $p = 0.024$; 8.10 ± 1.40 vs 3.20 ± 1.7, $p = 0.018$; 9.8 ± 3.2 vs 0.83 ± 0.21, $p < 0.001$, respectively). Consequently, 1 year after surgery in the AR group, it was possible to state the persistence of systemic inflammatory response and associated endotheliopathy. Platelet count decreased in both groups – AR and AS to the reference range, but remained at a higher level relative to the baseline values (267.8 ± 28.9 vs 182.9 ± 14.0, $p < 0.05$; 257.5 ± 22.6 vs 182.9 ± 14.0, $p < 0.05$, respectively).

Thus, during the analysis of clinical and laboratory parameters in the main and comparison groups, the following patterns were revealed at various stages of the study. By the end of the second day after on-pump CABG, signs of systemic inflammatory response and endotheliopathy were revealed in both groups as an increase in the concentration of IL-6,

Напротив, в группе АР пациентов средние значения ААТ оставались повышенными относительно предоперационного значения (64.1 ± 7.0 % vs 35.4 ± 3.3 %; $p < 0.01$). Содержание в крови ИЛ-6, вЧСРБ и ЭТ-1 имело тенденцию к снижению, однако не достигало исходных значений и сохранялось повышенным относительно предоперационного уровня (5.70 ± 0.62 vs 2.6 ± 0.3 пг/мл, $p < 0.05$; 8.10 ± 1.40 vs 2.5 ± 0.3 мг/мл, $p < 0.02$; 9.8 ± 3.2 vs 1.2 ± 0.2 фмоль/мл, $p < 0.01$ соответственно). Статистически значимые различия по ААТ, ИЛ-6, вЧСРБ и ЭТ-1 между группами АР и АЧ пациентов сохранялись через год после операции (64.1 ± 7.0 vs 34.2 ± 3.2 , $p < 0.001$; 5.70 ± 0.62 vs 2.90 ± 0.53 , $p = 0.024$; 8.10 ± 1.40 vs 3.20 ± 1.7 , $p = 0.018$; 9.8 ± 3.2 vs 0.83 ± 0.21 , $p < 0.001$; соответственно). Следовательно, спустя 1 год после оперативного вмешательства в группе АР пациентов можно было констатировать персистенцию системного воспалительного ответа и сопряженной с ним эндотелиопатии. Количество тромбоцитов снизилось в обеих группах – АР и АЧ – до референсного интервала, но относительно исходного значения сохранялось на более высоком уровне (267.8 ± 28.9 vs 182.9 ± 14.0 , $p < 0.05$; 257.5 ± 22.6 vs 182.9 ± 14.0 , $p < 0.05$ соответственно).

Таким образом, в процессе анализа клинико-лабораторных показателей в группах АР (основная группа) и АЧ (группа сравнения) на различных этапах исследования были выявлены следующие закономерности. К исходу 2 сут после КШ в условиях ИК выявлены признаки системного воспалительного ответа и эндотелиопатии в обеих группах наблюдения в виде повышения концентрации в крови ИЛ-6, вЧСРБ и ЭТ-1. Однако выраженность этих процессов была существенно выше в группе АР пациентов, и это было сопряжено с повышением агрегационной активности тромбоцитов несмотря на прием аспирина. В конце первого года после операции у части пациентов сохранялись признаки системного воспалительного ответа, эндотелиопатии, а также, на их фоне, повышенной агрегационной активности тромбоцитов, что свидетельствовало о наличии у них Ар. Количество коронарных шунтов (кКШ) и время длительности ИК было больше в группе АР, чем в группе АЧ (3.2 ± 0.3 vs 2.1 ± 0.2 , $p = 0.02$; 110.1 ± 15.4 vs 71.0 ± 6.8 мин, $p = 0.001$ соответственно). Возможно, это послужило причиной более серьезных сдвигов в изучаемых параметрах в группе АР пациентов.

В результате регрессионного анализа получен ряд предикторов, показавших свою связь с ААТ

HSRP and ET-1 in the blood. However, the severity of these processes was significantly higher in the group of AR patients, and this was associated with an increase in platelet aggregation activity despite taking aspirin. At the end of the first year after surgery, some patients showed signs of systemic inflammatory response, endotheliopathy, as well as, in the setting of the abovementioned, increased platelet aggregation activity, which indicated the presence of Ar in them. NBGs and CBT parameters were higher in the AR group than in the AS group (3.2 ± 0.3 vs 2.1 ± 0.2 , $p = 0.02$; 110.1 ± 15.4 vs 71.0 ± 6.8 min, $p = 0.001$, respectively). This may have caused more serious shifts in the studied parameters in the AR group.

As a result of the regression analysis, a number of predictors were obtained that showed their association with PAA (Table 2). Age, LVEF, severity of coronary artery (CA) stenosis, platelet count were excluded from the model, since their relationship with PAA did not show statistical significance ($p > 0.05$).

As a result, we got a set of five risk factors significantly associated with PAA: ET-1, IL-6, HSRP, CBT, NBGs (highlighted in bold in Table 2). The results of the analysis showed that in total, the predictors we obtained, got have a statistically significant effect ($F = 12.2$; $p < 0.012$) on the value of PAA.

IL-6 (standardized regression coefficient beta (SRC beta) is 0.453) affects the PAA level more than other factors. Further, the predictors were arranged in descending order of significance of the association with PAA: ET-1 (SRC = 0.390), CBT (SRC = 0.175), HSRP (SRC = 0.152), NBGs (SRC = 0.118).

The regression equation, which allows predicting the value of PAA, was taken the form

$$PAA = 34.40 + 0.45 \cdot IL-6 + 0.92 \cdot ET-1 + 0.25 \cdot CBT + 0.73 \cdot HSRP + 0.13 \cdot NBGs,$$

where 34.40 is the absolute term of the equation.

Considering the signs of coefficient B, it can be observed that all predictors have a positive effect on the response values (PAA).

To assess the relationship of induced Ar (based on the PAA level) with the risk of CVC in patients after on-pump CABG, we used binary logistic regression.

The results of the analysis showed that PAA is a statistically significant prognostic factor for CVC ($\chi^2 = 21.0$; $p = 0.013$):

$$p = 1/(1 + e^{-y}),$$

where p is probability of CVC, %;

$$y = -3.734 + 0.109PAA.$$

If probability we calculated exceeded the value of the prior probability of CVC, then the patient was

(табл. 2). Возраст, ФВЛЖ, уровень стеноза коронарных артерий (КА), количество тромбоцитов были исключены из модели, так как их связь с ААТ не показала статистической значимости ($p > 0.05$).

В итоге нами была получена совокупность из пяти факторов риска, статистически значимо связанных с ААТ: ЭТ-1, ИЛ-6, вчСРБ, время ИК, кКШ (выделены в табл. 2 полужирным). Результаты анализа показали, что в совокупности полученные нами предикторы оказывают статистически значимое влияние ($F = 12.2$; $p < 0.012$) на величину ААТ.

Более других факторов влияет на уровень ААТ показатель ИЛ-6 (стандартизованный коэффициент регрессии (СКР) бета равен 0.453). Далее предикторы расположились по убыванию по значимости связи с ААТ: ЭТ-1 (СКР = 0.390), время ИК (СКР = 0.175), вчСРБ (СКР = 0.152), кКШ (СКР = 0.118).

Уравнение регрессии, позволяющее спрогнозировать значение ААТ, имело вид

$$\text{ААТ} = 34.40 + 0.45 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.92 \cdot \text{ЭТ-1} + 0.25 \cdot \text{Время ИК} + 0.73 \cdot \text{вчСРБ} + 0.13 \cdot \text{кКШ},$$

где 34.40 – свободный член уравнения.

assigned to a group with a high risk of CVC. The prior probability of CVC corresponding to the proportion of patients with CVC (20.4%) was calculated by the formula: $53 / 260 \cdot 100 = 20.4\%$, where 53 is the number of cases of all CVC, 260 is the total number of the study participants.

When analyzing the adequacy of the regression model, it was revealed that the sensitivity of the model was 92.5%, the specificity was 65.2%, which indicates a good predictive capability of this model. The significant predictive accuracy is also indicated by the high value of the lower limit of the confidence interval of the odds ratio of 8.0–66.2 (Table 3).

Discriminant analysis was used to decide, which variables distinguish (discriminate) patients with four types of CVC (recurrence of angina pectoris, MI, decompensation of HF, sudden cardiac death) and with the absence of these complications.

The main idea of discriminant analysis is to determine whether classes of objects differ in some combinations of variables (predictors), and then use these variables to predict affiliation of new objects with a particular class. It is important to emphasize that discriminant analysis takes into account not only the isolated influence of a factor on the classification result, but also the effects of the mutual influ-

Таблица 2. Результаты регрессионного анализа для оценки связи предикторов аспиринорезистентности с уровнем ААТ ($n = 260$)

Table 2. Results of regression analysis to assess the relationship of aspirin resistance predictors with the PAA level ($n = 260$)

Параметры Parameters	Итоги регрессии для зависимой переменной: ААТ R = 0.84, R ² = 0.75, скорректированный R ² = 0.72 F(9,250) = 12.20, p = 0.012, стандартная ошибка оценки: 3.10 Regression results for the dependent variable: PAA R = 0.84, R ² = 0.75, adjusted R ² = 0.72 F(9,250) = 12.20, p = 0.012, standard estimation error: 3.10					
	БЕТА BETA	Стд. ош. БЕТА Standard error BETA	B	Стд. ош. B Standard error B	t(150)	p
Свободный член Absolute term	-	-	34.395	7.552	4.55	<0.001
ИЛ-6 / IL-6	0.453	0.063	0.451	0.063	7.15	<0.001
ЭТ-1 / ET-1	0.390	0.069	0.918	0.163	5.63	<0.001
Время ИК / CBT	0.175	0.062	0.253	0.089	2.84	0.005
вчСРБ / HSRP	0.152	0.058	0.734	0.283	2.60	0.010
кКШ / NBGs	0.118	0.065	0.125	0.069	2.11	0.041
ФВЛЖ / LVEF	0.117	0.065	0.125	0.069	1.83	0.148
Стеноз КА / CA stenosis	0.117	0.063	0.173	0.094	1.85	0.149
Тромбоциты Platelet count	0.105	0.060	0.194	0.111	1.75	0.252
Возраст / Age	-0.113	0.065	-0.136	0.078	-1.74	0.320

П р и м е ч а н и е : ААТ – агрегационная активность тромбоцитов; Стд. ош. – стандартная ошибка; ИЛ-6 – интерлейкин-6; ЭТ-1 – эндотелин-1; ИК – искусственное кровообращение; вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; кКШ – количество коронарных шунтов; ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка; КА – коронарная артерия.

N o t e : PAA – platelet aggregation activity; IL-6 – interleukin-6; ET-1 – endothelin-1; CBT – cardiopulmonary bypass time; HSRP – highly sensitive C-reactive protein; NBGs – number of bypass grafts; LVEF – left ventricular ejection fraction; CA – coronary artery.

Учитывая знаки коэффициентов В, видно, что все предикторы оказывают положительное влияние на значения отклика (ААТ).

Для оценки связи индуцированной Ар (по уровню ААТ) с риском развития ССО у пациентов после КШ в условиях ИК нами использовался метод бинарной логистической регрессии.

Результаты анализа показали, что ААТ является статистически значимым прогностическим фактором для ССО ($\chi^2 = 21.0$; $p = 0.013$):

$$p = 1/(1 + e^{-y}),$$

где p – вероятность возникновения ССО, %;

$$y = -3.734 + 0.109\text{ААТ}.$$

Если рассчитанная вероятность превышала значение априорной вероятности ССО, то пациента относили к группе с высоким риском ССО. Априорная вероятность ССО, соответствующая доле пациентов с ССО (20.4 %), была рассчитана по формуле: $53 / 260 \cdot 100 = 20.4\%$, где 53 – число случаев всех ССО, 260 – общее число участвующих в исследовании пациентов.

При анализе адекватности полученной регрессионной модели было выявлено, что чувствительность модели составила 92.5 %, специфичность – 65.2 %, что свидетельствует о хорошей прогностической способности данной модели. На значительную точность прогноза указывает и высокое значение нижней границы доверительного интервала отношения шансов 8.0–66.2 (табл. 3).

Для принятия решения о том, какие переменные различают (дискриминируют) пациентов с четырьмя типами ССО (рецидив стенокардии, ИМ, декомпенсация СН, внезапная коронарная смерть) и с отсутствием этих осложнений, использовался дискриминантный анализ.

Основная идея дискриминантного анализа заключается в том, чтобы определить, отличаются ли классы объектов по каким-либо комбинациям переменных (предикторов), и затем использовать эти переменные, чтобы предсказать для новых объектов принадлежность к тому или иному

ence of factors (diagnostic signs) on each other. As a result of the stepwise analysis, significant predictors were identified that make the maximal contribution to discrimination. Their coefficients, which differ from zero, are highlighted in Table 4 in bold. The rest diagnostic variables were excluded from the analysis, since their influence was statistically insignificant (Table 4).

According to Table 3, using the obtained values of the coefficients, a linear model containing the equations of discriminating functions was constructed:

$$1) \text{ Without CVC} = -27.6 + 1.90 \cdot \text{PAA} - 0.39 \times \text{CBT} + 0.33 \cdot \text{HSRP} + 0.34 \cdot \text{IL-6} + 0.06 \cdot \text{ET-1};$$

$$2) \text{ Recurrence of angina pectoris} = -22.8 + 1.21 \times \text{PAA} + 0.47 \cdot \text{IL-6} + 0.25 \cdot \text{HSRP} + 0.09 \cdot \text{CBT} + 0.05 \cdot \text{ET-1};$$

$$3) \text{ MI} = -33.4 + 1.32 \cdot \text{CBT} + 1.21 \cdot \text{PAA} + 0.41 \times \text{IL-6} + 0.32 \cdot \text{HSRP} + 0.13 \cdot \text{ET-1};$$

$$4) \text{ Decompensation of HF} = -39.05 + 1.19 \cdot \text{PAA} + 0.68 \cdot \text{IL-6} + 0.59 \cdot \text{HSRP} + 0.31 \cdot \text{CBT} + 0.05 \times \text{ET-1};$$

$$5) \text{ Sudden coronary death} = -102.9 + 2.00 \times \text{CBT} + 1.54 \cdot \text{PAA} + 1.22 \cdot \text{IL-6} + 0.63 \cdot \text{HSRP} + 0.05 \cdot \text{ET-1}.$$

The significance of the contribution to the classification of each term corresponding to the diagnostic sign is determined by its location in the equation. If it is necessary to predict the class of complications for new patients, all five equations are calculated, while a particular patient will belong to the class of complications corresponding to the maximal value of the function with a probability of 87%.

Table 5 shows the proportions of correct cases of classification of patient that characterize the classification accuracy of the discriminant model. Thus, the classification was carried out correctly for 92% of patients without CVC, 73% with recurrence of angina, 57% with MI, 60% with decompensation of HF and for 75% with sudden cardiac death. 33 errors were made in 260 cases. The overall classification accuracy was 87% (Table 5). In columns under the group names, prior probabilities (p) are given – the observed proportions of patients in each group.

Таблица 3. Результаты анализа качества регрессионной модели
Table 3. Results of the regression model quality analysis

Наблюдаемые результаты Results	Предсказанные результаты Predicted results		Доля верных прогнозов Proportion of true prognoses (%)	Общая доля верных прогнозов Total share of true prognoses (%)	Отношение шансов (ДИ 95%) Odds ratio (CI 95%)
	ССО / CVC	Нет ССО / No CVC			
ССО / CVC	49	4	92.5	70.8	23.0
Нет ССО / No CVC	72	135	65.2		(8.0-66.2)

Примечание. ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ДИ – доверительный интервал.
Note: CVC – cardiovascular complications; CI – confidence interval.

классу. Важно подчеркнуть, что в дискриминантном анализе учитывается не только изолированное влияние фактора на результат классификации, но и эффекты взаимного влияния факторов (диагностических признаков) друг на друга.

В результате пошагового анализа были выделены значимые предикторы, вносящие максимальный вклад в дискриминацию. Их коэффициенты, отличающиеся от нуля, выделены в табл. 4 полужирным. Остальные диагностические признаки были исключены из анализа, так как их влияние оказалось статистически незначимым (см. табл. 4).

По данным табл. 3, используя полученные значения коэффициентов, построили линейную модель, содержащую уравнения дискриминирующих функций:

1) Без ССО = $-27.6 + 1.90 \cdot \text{ААТ} - 0.39 \cdot \text{Время ИК} + 0.33 \cdot \text{вчСРБ} + 0.34 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.06 \cdot \text{ЭТ-1}$;

2) Рецидив стенокардии = $-22.8 + 1.21 \cdot \text{ААТ} + 0.47 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.25 \cdot \text{вчСРБ} + 0.09 \cdot \text{Время ИК} + 0.05 \cdot \text{ЭТ-1}$;

3) ИМ = $-33.4 + 1.32 \cdot \text{Время ИК} + 1.21 \cdot \text{ААТ} + 0.41 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.32 \cdot \text{вчСРБ} + 0.13 \cdot \text{ЭТ-1}$;

4) Декомпенсация СН = $-39.05 + 1.19 \cdot \text{ААТ} + 0.68 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.59 \cdot \text{вчСРБ} + 0.31 \cdot \text{Время ИК} + 0.05 \cdot \text{ЭТ-1}$;

Table 6 shows the values characterizing the degree of discernibility of the groups – the Mahalanobis distance. The most clearly distinct groups have large squares of the Mahalanobis distances. The maximal difference is observed between the groups “Without CVC” and “Sudden cardiac death” (103.3), and the minimal degree of difference between the groups “MI” and “Recurrence of angina pectoris” (5.9) (Table 6).

Thus, we have developed a four-dimensional mathematical model based on discriminant analysis, which allows us to predict the risks of four types of CVC in patients after on-pump CABG surgery with high accuracy. The most important prognostic signs of CVC are identified.

DISCUSSION

The present study showed a high frequency (46.9%) of the development of induced Ar on the 2nd day after on-pump CABG. But an even more important fact was that Ar persisted by the end of the 1st year after surgery in 24% of patients. Several studies indicate Ar develops in the early postoperative period. Thus, in an observational prospective bicentric cohort study conducted in clinics in Germany (400 patients), Ar was detected in 51.5% of patients on the 3rd day after CABG with an increase in their

Таблица 4. Значимые предикторы модели
Table 4. Significant predictors of the model

Параметры Parameters	Функции классификации для линейных уравнений Classification functions for linear equations				
	Без ССО Without CVC 79.6 %	Стенокардия Angina pectoris 14.2 %	ИМ MI 2.7 %	Декомпенсация СН Decompensation of HF 1.9 %	Внезапная коронарная смерть Sudden cardiac death 1.5 %
Свободный член / Absolute term	-27.63	-22.82	-33.39	-39.05	-102.86
ЭТ-1 / ET-1	0.058	0.047	0.128	0.052	0.052
ИЛ-6 / IL-6	0.340	0.473	0.413	0.679	1.222
вчСРБ / HSRP	0.325	0.251	0.321	0.587	0.627
ААТ / PAA	1.899	1.209	1.206	1.193	1.542
Время ИК / СВТ	-0.390	0.089	1.323	0.311	2.004
Тромбоциты / Platelet count	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
кКШ / NBGs	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
ФВЛЖ / LVEF	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Стеноз КА / CA stenosis	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Возраст / Age	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Примечание. ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ИМ – инфаркт миокарда; СН – сердечная недостаточность; ЭТ-1 – эндотелин-1; ИЛ-6 – интерлейкин-6; вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ААТ – агрегационная активность тромбоцитов; ИК – искусственное кровообращение; кКШ – количество коронарных шунтов; ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка; КА – коронарная артерия.

Note: CVC – cardiovascular complications; MI – myocardial infarction; HF – heart failure; ET-1 – endothelin-1; IL-6 – interleukin-6; HSRP – highly sensitive C-reactive protein; PAA – platelet aggregation activity; СВТ – cardiopulmonary bypass time; NBGs – number of bypass grafts; LVEF – left ventricular ejection fraction; CA – coronary artery.

5) Внезапная коронарная смерть = $-102.9 + 2.00 \cdot \text{Время ИК} + 1.54 \cdot \text{ААТ} + 1.22 \cdot \text{ИЛ-6} + 0.63 \cdot \text{вчСРБ} + 0.05 \cdot \text{ЭТ-1}$.

Значимость вклада в классификацию каждого слагаемого, соответствующего диагностическому признаку, определяется его расположением в уравнении. Если необходимо спрогнозировать класс осложнений для новых пациентов, рассчитывают все пять уравнений, при этом конкретный пациент будет относиться к классу осложнений, соответствующему максимальному значению функции с вероятностью 87 %.

В табл. 5 показаны доли верных случаев классификации пациентов, характеризующих точность классификации дискриминантной модели. Таким образом, классификация проведена правильно для 92 % пациентов без ССО, 73 % с рецидивом стенокардии, 57 % с ИМ, 60 % с декомпенсацией СН и для 75 % с внезапной коронарной смертью. Допущено 33 ошибки в 260 случаях. Общая точность классификации составила 87 % (см. табл. 5). В полях столбцов под названиями групп указаны априорные вероятности (p) – наблюдаемые доли пациентов каждой группы.

В табл. 6 показаны величины, характеризующие степень различимости групп – расстояния Махаланобиса. Наиболее четко отличающиеся группы имеют большие квадраты расстояний Махаланобиса. Максимальное различие наблюдается между классификационными группами «Без ССО» и «Внезапная коронарная смерть» (значение 103.3), а минимальная степень разли-

proportion to 71.3% by the 5th postoperative day [3]. Özkan et al. studied data from 80 patients who underwent CABG. In the preoperative period, Ar was detected in 23 patients (28.75%), 7 days after CABG – in 31 (38.75%) (out of 31 people, only 8 did not have Ar at baseline), after 15 days – in 25 (31.25%) [13]. The authors reported a decrease in the frequency of Ar by the 15th day after CABG virtually to the baseline values (23 vs 25 people) and conclude that the Ar is transient in nature, with its rapid reverse development. Our data contradict the results obtained by Özkan et al., since Ar in some patients that underwent CABG persisted by the end of the 1st year. These circumstances need further study.

Thrombocytosis and platelet activation in response to CABG are often cited as the cause of postoperative Ar. This leads to an increase in the production of thromboxane, which the standard dose of ASA needs more time to block [11, 12]. In our work, we also found thrombocytosis on the 2nd day after CABG in both study groups ($p < 0.05$). Thus, the platelet count increased by about 2.5 times compared to the baseline level. At the same time, there were no differences in the platelet count between the AR and AS groups by the 2nd day. Also, by the 1st year end, the platelet count in the blood in both groups decreased simultaneously to reference values without a significant difference between AR and AS patients. However, a significant difference from the baseline values of the preoperative period remained in both groups. We did not notice significant differences in the dynamics of platelet count in the AR and AS groups at different stages of the study, and there-

Таблица 5. Матрица результатов классификации ССО с помощью дискриминантного анализа
Table 5. Matrix of the results of CVC classification using discriminant analysis

Группа Group ($n = 260$)	Доля правильных прогнозов, % Proportion of cases of accurate prediction %	Без ССО Without CVC 79.6 %	Рецидив стенокардии Recurrence of angina pectoris 14.2 %	ИМ MI 2.7 %	Внезапная коронарная смерть Sudden cardiac death 1.5 %	Декомпен- сация СН Decompen- sation of HF 1.9 %
Без ССО / Without CVC	92	190	10	5	0	2
Рецидив стенокардии Recurrence of angina pectoris	73	2	27	5	1	2
ИМ / MI	57	0	1	4	1	1
Декомпенсация СН Decompensation of HF	60	0	1	1	0	3
Внезапная коронарная смерть Sudden cardiac death	75	0	0	1	3	0
Всего / Total	87	192	39	16	5	8

П р и м е ч а н и е . ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ИМ – инфаркт миокарда; СН – сердечная недостаточность. Строки – наблюдаемые случаи; колонки – спрогнозированные случаи.

N o t e : CVC – cardiovascular complications; MI – myocardial infarction; HF – heart failure. Lines – observed cases; columns – predicted cases.

Таблица 6. Характеристика степени различимости групп
Table 6. Characteristics of the degree of discernibility of groups

Группа Group	Квадраты расстояний Махаланобиса Squares of the Mahalanobis distances			
	Рецидив стенокардии Recurrence of angina pectoris	ИМ MI	Внезапная коронарная смерть Sudden cardiac death	Декомпенсация СН Decompensation of HF
Без ССО / Without CVC	22.6	17.9	103.3	8.3
Рецидив стенокардии Recurrence of angina pectoris	–	5.9	69.8	12.4
ИМ / MI	–	–	18.1	80.5
Внезапная коронарная смерть Sudden cardiac death	–	–	–	82.3

П р и м е ч а н и е . ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ИМ – инфаркт миокарда; СН – сердечная недостаточность.
 N o t e : CVC – cardiovascular complications; MI – myocardial infarction; HF – heart failure.

чия – между группами «ИМ» и «Рецидив стенокардии» (значение 5.9) (табл. 6).

Таким образом, нами была разработана четырехмерная математическая модель, основанная на методе дискриминантного анализа, позволяющая прогнозировать риски четырех видов ССО у пациентов после КШ в условиях ИК с высокой точностью. Выделены наиболее важные прогностические признаки ССО.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании продемонстрирована высокая частота (46.9 %) развития индуцированной Ар на 2-е сутки после операции КШ в условиях ИК. Но еще более важным фактом явилось то, что Ар персистировала к исходу 1-го года после оперативного вмешательства у 24 % прооперированных пациентов. В ряде работ указывается, что Ар развивается в раннем послеоперационном периоде. Так, в обсервационном проспективном двучетровом когортном исследовании, проведенном в клиниках Германии (400 пациентов), Ар была обнаружена у 51.5 % пациентов на 3-и сутки после КШ с увеличением их доли до 71.3 % к 5-му послеоперационному дню [3]. Н. Özkan et al. изучали данные 80 пациентов, которым проведено КШ. В предоперационном периоде Ар была выявлена у 23 пациентов (28.75 %), после КШ через 7 сут – у 31 (38.75 %) (из 31 чел. только у 8 не было исходной Ар), через 15 дней – у 25 (31.25 %) [13]. Авторы констатируют снижение частоты Ар к 15-му дню после КШ практически до исходной (23 vs 25 чел.) и делают вывод о скоротечном характере Ар, с ее быстрым обратным развитием. Наши данные вступают в противоречие с результатами, полученными Н. Özkan et al., поскольку Ар у части проопериро-

fore could not associate postoperative thrombocytosis with the development of Ar. Also, thrombocytosis, as a predictor, was excluded from the regression analysis model, since its association with PAA did not show statistical significance.

It is recognized that systemic inflammatory response syndrome develops in the setting of on-pump CABG because of surgical trauma, activation of blood components in the cardiopulmonary circuit, ischemic/reperfusion injury, aortic cross-clamping, hypothermia and release of endotoxins [14, 15]. In many studies devoted to this problem, tumor necrosis factor alpha, IL-1, IL-6, IL-8, CRP are tested as markers of inflammatory response [16, 17]. Simultaneously with the inflammatory reaction, develops endotheliopathy and activation of platelet vascular and coagulation components of platelet takes place [15]. An important consequence of such processes is the development of graft stenosis by the 1st year end after surgery in 10–25% of cases [1]. In our work, we used IL-6, HSRP and ET-1 as indicators reflecting integratively the associated processes of inflammation and endotheliopathy. Expectedly, by the end of the 2nd day after surgery, a significant increase in IL-6, HSRP, ET-1 was recorded in the AS and AR groups. However, in the AR group, the levels of markers were statistically significantly higher (1.9, 1.8, 2.2 times, respectively) than in the AS group. A year after the CABG surgery, in the group of AR patients, the levels of IL-6, HSRP, ET-1 remained elevated relative to the baseline, while in AS patients these indicators decreased to reference values. This circumstance allowed us to bind these two facts together – Ar and high values of markers of systemic inflammatory response and endotheliopathy.

As a risk factor for postoperative Ar, CBT is considered [3, 13]. We have also identified such associa-

ванных больных персистировала к исходу 1-го года. Данные обстоятельства нуждаются в дальнейшем изучении.

В качестве причины постоперационной Ар часто называют тромбоцитоз и активацию кровяных пластинок в ответ на КШ. Это приводит к росту продукции тромбоксана, который не успевает блокировать стандартная доза АСК [11,12]. В нашей работе мы также выявили тромбоцитоз на 2-е сутки после КШ в обеих исследуемых группах ($p < 0.05$). Так, количество тромбоцитов увеличилось примерно в 2.5 раза по сравнению с исходным уровнем. При этом различий по количеству тромбоцитов между группами АР и АЧ ко 2-м суткам выявлено не было. Также к исходу 1-го года количество тромбоцитов в крови в обеих группах снижалось синхронно до референсных значений без достоверной разницы между АР и АЧ пациентами, однако статистически значимое отличие от исходных значений дооперационного периода сохранялось в обеих группах. Мы не отметили существенных различий в динамике количества тромбоцитов в группах АР и АЧ пациентов на разных этапах исследования и поэтому не смогли связать постоперационный тромбоцитоз с развитием Ар. Также тромбоцитоз, как предиктор, был исключен из модели регрессионного анализа, так как его связь с ААТ не показала статистической значимости.

Общепризнанным является факт, что при КШ в условиях ИК развивается синдром системного воспалительного ответа как следствие хирургической травмы, активации компонентов крови в контуре аппарата ИК, ишемического/реперфузионного повреждения, пережатия аорты, гипотермии и выделения эндотоксинов [14, 15]. Во многих исследованиях, посвященных этой проблеме, в качестве маркеров воспалительного ответа тестируют фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, СРБ [16, 17]. Одновременно с воспалительной реакцией развивается эндотелиопатия и активация тромбоцитарно-сосудистого и коагуляционного звеньев тромбообразования [15]. Важным следствием таких процессов является развитие стеноза шунта к исходу 1-го года после оперативного вмешательства в 10–25 % случаев [1]. В своей работе мы использовали ИЛ-6, вЧСРБ и ЭТ-1 в качестве показателей, интегративно отражающих сопряженные процессы воспаления и эндотелиопатии. Закономерно к исходу 2-х суток после оперативного вмешательства в группах АЧ и АР пациентов был зарегистрирован существенный рост ИЛ-6, вЧСРБ, ЭТ-1. Однако в группе АР пациенты уровни маркеров

tion. A similar dependence was typical for NBGs. It was found that the AR group had a higher NBGs, consequently therefore, a longer CBT (3.2 ± 0.3 vs 2.1 ± 0.2 , $p = 0.02$; 110.1 ± 15.4 vs 71.0 ± 6.8 min, $p = 0.001$, respectively). Probably, not only an increase in the duration's of patient's contact blood with the cardiopulmonary circuit played a role here, but also the volume of surgical trauma. Wand et al., using multiple linear logistic regression analysis, got the following independent predictors of Ar – the area under the curve of platelet aggregation in the TRAPtest ($p < 0.0001$), the platelet count on 5th postoperative day ($p = 0.009$) and CBT ($p = 0.01$) [3].

Regression analysis revealed the important role of markers of systemic inflammatory response and endotheliopathy (IL-6, HSRP, ET-1) in the development of the phenomenon of Ar in patients after on-pump CABG surgery. Using binary logistic regression analysis, it was found that the value of PAA determines the degree of risk of developing CVC during the year after surgery.

Several studies indicate the frequency of the most common CVC after on-pump CABG during the 1st postoperative year: sudden cardiac death – 2.5%, non-fatal MI – 3.7%, repeat revascularization – 3.2% [18]. For a 5 year postoperative follow-up, such CVC as sudden cardiac death – 3.0%, MI – 1.5%, repeat revascularization – 3% are indicated [19]. These data are consistent with the frequency of CVC after surgery in our study: recurrence of angina – 14.2%; MI – 2.7%; sudden cardiac death – 1.5%; decompensation of HF – 1.5%. To assess the relationship of the clinical and laboratory predictors with the risk of developing a certain type of CVC, we used linear discriminant analysis. The equations obtained make it possible to predict the risks of four types of CVC in patients after on-pump CABG with high accuracy.

CONCLUSION

Despite the publication of a significant number of papers, the causes and mechanisms of induced Ar associated with on-pump CABG remain not fully understood. In our study, we have demonstrated the relationship between the development of the phenomenon of the induced Ar with an increase in the levels of markers of systemic inflammatory response and endotheliopathy (IL-6, HSRP, ET-1), as well as CBT and NBGs. Identification of the Ar predictors is an important direction among measures aimed at preventing this phenomenon, which will reduce the risk of complications after CABG and improve the prognosis after surgery.

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

были статистически значимо выше (в 1.9, 1.8, 2.2 раза соответственно), чем в группе АЧ. Через год после КШ отмечено, что в группе АР пациентов сохранялись повышенными уровни ИЛ-6, вЧСРБ, ЭТ-1 относительно исходных значений, в то время как у АЧ пациентов данные показатели снижались до нормальных значений. Данное обстоятельство позволило нам связать два факта воедино – АР и высокие показатели маркеров системного воспалительного ответа и эндотелиопатии.

Как фактор риска постоперационной АР рассматривается длительность нахождения оперируемого на аппарате ИК [3, 13]. Мы также выявили такую ассоциацию. Подобная зависимость была характерна и для кКШ. Было установлено, что в группе АР было большее количество шунтов и, следовательно, большая длительность пребывания в условиях ИК (3.2 ± 0.3 vs 2.1 ± 0.2 , $p = 0.02$; 110.1 ± 15.4 vs 71.0 ± 6.8 мин, $p = 0.001$ соответственно). Вероятно, здесь сыграли свою роль не только увеличение длительности времени контакта крови пациента с контуром ИК, но и объем операционной травмы. S. Wand et al., используя метод множественной линейной логистической регрессии, получили следующие независимые предикторы АР – площадь под кривой агрегации тромбоцитов в TRAP тесте ($p < 0.0001$), количество тромбоцитов на 5-й послеоперационный день ($p = 0.009$) и время ИК ($p = 0.01$) [3].

С помощью регрессионного анализа была выявлена важная роль маркеров системного воспаления и эндотелиопатии (ИЛ-6, вЧСРБ, ЭТ-1) в развитии феномена АР у пациентов, перенесших операцию КШ в условиях ИК. С помощью метода бинарной логистической регрессии было установлено, что величина ААТ определяет степень риска развития ССО в течение года после оперативного вмешательства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gurbel P.A., Navarese E.P., Tantry U.S. The optimal antithrombotic regimen to prevent post-CABG adverse events: an ongoing controversy // *Eur. Heart J.* 2019;40(29):2441-2443. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz263.
2. Łabuz-Roszak B., Horyniecki M., Łacka-Gaździk B. Acetylsalicylic acid in the prevention and treatment of cardiovascular diseases // *Wiad Lek.* 2018;71(8):1608-1614.
3. Wand S., Adam E.H., Wetz A.J. et al. The prevalence and clinical relevance of ASA nonresponse after cardiac surgery: A prospective bicentric study // *Clin. Appl. Thromb Hemost.* 2018;24(1):179-185. DOI: 10.1177/1076029617693939.

В ряде работ упоминается частота наиболее часто встречающихся ССО после КШ в условиях ИК при наблюдении в течение 1-го года: внезапная коронарная смерть – 2.5 %, нефатальный ИМ – 3.7 %, повторная реваскуляризация – 3.2 % [18]. При 5-летнем сроке наблюдения указываются такие ССО, как внезапная коронарная смерть – 3.0 %, ИМ – 1.5 %, повторная реваскуляризация – 3 % [19]. Эти данные согласуются с частотой ССО, развившихся после оперативного вмешательства в нашем наблюдении: рецидив стенокардии – 14.2 %; ИМ – 2.7 %; внезапная коронарная смерть – 1.5 %; декомпенсация СН – 1.5 %. Для оценки связи изучаемых клинико-лабораторных предикторов с риском развития определенного вида ССО мы использовали линейный дискриминантный анализ. Полученные уравнения позволяют прогнозировать риски четырех видов ССО у пациентов после КШ в условиях ИК с высокой точностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на публикацию значительного количества работ, причины и механизмы индуцированной АР, ассоциированной с КШ в условиях ИК, остаются до конца не изученными. Мы в своей работе продемонстрировали связь развития феномена индуцированной АР с повышением уровней маркеров системного воспалительного ответа и эндотелиопатии (ИЛ-6, вЧСРБ, ЭТ-1), а также временем ИК и кКШ. Выявление предикторов АР является важным направлением в рамках мероприятий, направленных на профилактику этого феномена, что позволит снизить риск осложнений после КШ и улучшить прогноз после операции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Gurbel P.A., Navarese E.P., Tantry U.S. The optimal antithrombotic regimen to prevent post-CABG adverse events: an ongoing controversy. *Eur. Heart J.* 2019;40(29):2441-2443. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz263.
2. Łabuz-Roszak B., Horyniecki M., Łacka-Gaździk B. Acetylsalicylic acid in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Wiad Lek.* 2018;71(8):1608-1614.
3. Wand S., Adam E.H., Wetz A.J. et al. The prevalence and clinical relevance of ASA nonresponse after cardiac surgery: A prospective bicentric study. *Clin. Appl. Thromb Hemost.* 2018;24(1):179-185. DOI: 10.1177/1076029617693939.

4. Karim M.N., Reid C.M., Huq M. et al. Predicting long-term survival after coronary artery bypass graft surgery // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2018;26(2):257-263. DOI: 10.1093/icvts/ivx330.
5. Mohamed M.O., Hirji S., Mohamed W. et al. Incidence and predictors of postoperative ischemic stroke after coronary artery bypass grafting // *Int. J. Clin. Pract.* 2021;75(5):e14067. DOI: 10.1111/ijcp.14067.
6. Malmberg M., Gunn J., Rautava P. et al. Outcome of acute myocardial infarction versus stable coronary artery disease patients treated with coronary bypass surgery // *Ann. Med.* 2021;53(1):70-77. DOI: 10.1080/07853890.2020.1818118.
7. Barstow C., McDivitt J.D., Essent F.P. Cardiovascular disease update: Care of patients after coronary artery bypass graft // *FP Essent.* 2017;454:29-33.
8. Eikelboom R., Muller Moran H.R., Lodewyckx C. et al. The COMPASS trial: practical considerations for application after coronary artery bypass surgery // *Curr. Opin. Cardiol.* 2020;35(5):583-588. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000766.
9. Казанцев А.Н., Тарасов Р.С., Бурков Н.Н. и др. Прогрессирование прецеребрального атеросклероза и предикторы ишемических осложнений у пациентов кардиохирургического профиля // *Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова.* 2020;(7):31-38. DOI: 10.17116/hirurgia202007131.
10. Gong X., Wang X., Xu Z. et al. Over-expression of cyclooxygenase-2 in increased reticulated platelets leads to aspirin resistance after elective off-pump coronary artery bypass surgery // *Thromb. Res.* 2017;160:114-118. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.11.003.
11. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001. 296 с.
12. Leviner D.B., Zafir B., Jaffe R. et al. Impact of modifiable risk factors on long-term outcomes after coronary artery bypass surgery // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2021;69(7):592-598. DOI: 10.1055/s-0040-1719154.
13. Özkan H., Kiriş İ., Gülmen Ş. et al. Frequency of development of aspirin resistance in the early postoperative period and inadequate inhibition of thromboxane A2 production after coronary artery bypass surgery // *Turk Gogus Kalp Dama.* 2018;26(4):536-543. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2018.15489.
14. Sugita J., Fujiu K. Systemic inflammatory stress response during cardiac surgery // *Int. Heart J.* 2018;59(3):457-459. DOI: 10.1536/ihj.18-210.
15. Hatami S., Hefler J., Freed D.H. Inflammation and oxidative stress in the context of extracorporeal cardiac and pulmonary support // *Front. Immunol.* 2022;13:831930. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831930.
16. Jouybar R., Setoodeh M., Saravi Z.F. et al. The effect of melatonin on the serum level of interleukin 6 and interleukin 9 in coronary artery bypass grafting surgery // *Asian J. Anesthesiol.* 2020;58(1):35-44. DOI: 10.6859/aja.202003_58(1).0005.
17. Ohata T., Mitsuno M., Yamamura M. et al. Minimal cardiopulmonary bypass attenuates neutrophil activation and cytokine release in coronary artery bypass grafting // *J. Artif. Organs.* 2007;10(2):92-95. DOI: 10.1007/s10047-007-0377-0.
4. Karim M.N., Reid C.M., Huq M. et al. Predicting long-term survival after coronary artery bypass graft surgery. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2018;26(2):257-263. DOI: 10.1093/icvts/ivx330.
5. Mohamed M.O., Hirji S., Mohamed W. et al. Incidence and predictors of postoperative ischemic stroke after coronary artery bypass grafting. *Int. J. Clin. Pract.* 2021;75(5):e14067. DOI: 10.1111/ijcp.14067.
6. Malmberg M., Gunn J., Rautava P. et al. Outcome of acute myocardial infarction versus stable coronary artery disease patients treated with coronary bypass surgery. *Ann. Med.* 2021;53(1):70-77. DOI: 10.1080/07853890.2020.1818118.
7. Barstow C., McDivitt J.D., Essent F.P. Cardiovascular disease update: Care of patients after coronary artery bypass graft. *FP Essent.* 2017;454:29-33.
8. Eikelboom R., Muller Moran H.R., Lodewyckx C. et al. The COMPASS trial: practical considerations for application after coronary artery bypass surgery. *Curr. Opin. Cardiol.* 2020;35(5):583-588. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000766.
9. Kazantsev A.N., Tarasov R.S., Burkov N.N. et al. Progression of precerebral atherosclerosis and predictors of ischemic complications in cardiac patients. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2020;(7):31-38. DOI: 10.17116/hirurgia202007131. (In Russ.)
10. Gong X., Wang X., Xu Z. et al. Over-expression of cyclooxygenase-2 in increased reticulated platelets leads to aspirin resistance after elective off-pump coronary artery bypass surgery. *Thromb. Res.* 2017;160:114-118. DOI: 10.1016/j.thromres.2017.11.003.
11. Barkagan Z.S., Momot A.P. (2001). *Diagnosis and Controlled Therapy of Hemostatic Disorders.* Moscow: Newdiamed. 296 p. (In Russ.)
12. Leviner D.B., Zafir B., Jaffe R. et al. Impact of modifiable risk factors on long-term outcomes after coronary artery bypass surgery. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2021;69(7):592-598. DOI: 10.1055/s-0040-1719154.
13. Özkan H., Kiriş İ., Gülmen Ş. et al. Frequency of development of aspirin resistance in the early postoperative period and inadequate inhibition of thromboxane A2 production after coronary artery bypass surgery. *Turk Gogus Kalp Dama.* 2018;26(4):536-543. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2018.15489.
14. Sugita J., Fujiu K. Systemic inflammatory stress response during cardiac surgery. *Int. Heart J.* 2018;59(3):457-459. DOI: 10.1536/ihj.18-210.
15. Hatami S., Hefler J., Freed D.H. Inflammation and oxidative stress in the context of extracorporeal cardiac and pulmonary support. *Front. Immunol.* 2022;13:831930. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831930.
16. Jouybar R., Setoodeh M., Saravi Z.F. et al. The effect of melatonin on the serum level of interleukin 6 and interleukin 9 in coronary artery bypass grafting surgery. *Asian J. Anesthesiol.* 2020;58(1):35-44. DOI: 10.6859/aja.202003_58(1).0005.
17. Ohata T., Mitsuno M., Yamamura M. et al. Minimal cardiopulmonary bypass attenuates neutrophil activation and cytokine release in coronary artery bypass grafting. *J. Artif. Organs.* 2007;10(2):92-95. DOI: 10.1007/s10047-007-0377-0.
18. Koo C.Y., Aung A.T., Chen Z. et al. Sleep apnoea and cardiovascular outcomes after coronary artery bypass

18. Koo C.Y., Aung A.T., Chen Z. et al. Sleep apnoea and cardiovascular outcomes after coronary artery bypass grafting // *Heart*. 2020;106(19):1495-1502. DOI: 10.1136/heartjnl-2019-316118.
19. Lin S., Guan C., Wu F. et al. Coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention in patients with chronic total occlusion and multivessel disease // *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2022;15(2):e011312. DOI: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.121.011312.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ананьев Дмитрий Александрович – заведующий кардиохирургическим отделением КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, Россия.

Костюченко Геннадий Иванович – д-р мед. наук, заведующий лабораторным отделом КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, Россия

Затеев Андрей Владимирович – канд. мед. наук, доцент кафедры терапии и общей врачебной практики с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-5886-0535.

Грибова Галина Викторовна – канд. пед. наук, доцент, заведующий кафедрой физики и информатики ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0001-7993-5260.

Лескова Светлана Сергеевна – канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры физики и информатики ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-6476-2691.

Субботин Евгений Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры физики и информатики ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0001-5850-0233.

grafting. *Heart*. 2020;106(19):1495-1502. DOI: 10.1136/heartjnl-2019-316118.

19. Lin S., Guan C., Wu F. et al. Coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention in patients with chronic total occlusion and multivessel disease. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2022;15(2):e011312. DOI: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.121.011312.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry A. Ananiev – Head, Cardiology Department, Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia.

Gennadiy I. Kostyuchenko – Dr. Sci. (Med.), Head, Department of Laboratory Diagnostics, Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia.

Andrey V. Zateev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy and General Medical Practice with a Course of Advanced Professional Education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0002-5886-0535.

Galina V. Gribova – Cand. Sci. (Ped.), Associate Professor, Head, Department of Physics and Informatics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0001-7993-5260.

Svetlana S. Leskova – Cand. Sci. (Phys. and Math.), Associate Professor, Department of Physics and Informatics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, ORCID: 0000-0002-6476-2691.

Evgeniy A. Subbotin – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Physics and Informatics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, ORCID: 0000-0001-5850-0233.

Подход к лечению бактериального вагиноза с применением комплекса бактериофагов

У.В. Пилецкая, И.О. Маринкин, К.Ю. Макаров, Т.М. Соколова

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

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Разнообразные схемы лечения бактериального вагиноза (БВ) ставят перед клиницистом вопрос выбора адекватной терапии данного заболевания.

Ц е л ь . Улучшение результатов комплексного лечения женщин репродуктивного возраста с бактериальным вагинозом путем местного применения препаратов поливалентных бактериофагов.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Было проведено проспективное исследование с участием 120 пациенток от 18 до 45 лет с жалобами на патологические выделения из половых путей, наличием БВ, подтвержденного критериями R. Amsel. Пациентки были разделены на 4 группы по 30 чел. в зависимости от метода лечения БВ: группа 1 – метронидазол в гелевой форме интравагинально совместно с препаратом поливалентного бактериофага (ПВБ) «Фагогин» (гель) для местного применения; группа 2 – клиндамицин (крем) интравагинально совместно с ПВБ «Фагогин» для местного применения; группа 3 – хлоргексидин биглюконат в виде влагалищных таблеток совместно с ПВБ «Фагогин» для местного применения; группа 4 – препарат орнидазола 500 мг, неомицина 65 000 ЕД, преднизолона 3 мг, эконазола 100 мг («Эльжина») совместно с ПВБ «Фагогин» для местного применения.

Р е з у л ь т а т ы . Через 10–14 дней после санации эффективность метронидазола для вагинального применения в комплексном применении совместно с гелем «Фагогин» на основании критериев R. Amsel составила 60.00 %, клиндамицина для влагалищного применения совместно с гелем «Фагогин» – 73.33 %, хлоргексидина биглюконата для вагинального применения совместно с гелем «Фагогин» – 43.33 %, комплексного препарата «Эльжина» совместно с гелем «Фагогин» – 96.67 %.

З а к л ю ч е н и е . Комбинацию препаратов «Эльжина» и «Фагогин» целесообразно использовать в клинической практике для достижения лучших результатов лечения БВ, так как эта комбинация оказалась наиболее эффективной.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, бактериофаг, фаготерапия, комбинированная терапия, метронидазол, клиндамицин, хлоргексидин, «Эльжина», «Фагогин».

Образец цитирования: Пилецкая У.В., Маринкин И.О., Макаров К.Ю., Соколова Т.М. Подход к лечению бактериального вагиноза с применением комплекса бактериофагов // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):113-123. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-113-123

An approach to the treatment of bacterial vaginosis using a bacteriophage cocktail

U.V. Piletskaya, I.O. Marinkin, K.Yu. Makarov, T.M. Sokolova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . A variety of treatment regimens for bacterial vaginosis (BV) pose to the clinician the question of choosing appropriate therapy for this disease.

Поступила в редакцию 02.11.2023
Прошла рецензирование 15.11.2023
Принята к публикации 05.12.2023

Автор, ответственный за переписку
Пилецкая Ульяна Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: pil_ula@mail.ru

Received 02.11.2023
Revised 15.11.2023
Accepted 05.12.2023

Corresponding author
Ulyana V. Piletskaya: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: pil_ula@mail.ru

A i m . Improving the results of combination treatment of reproductive-age women with bacterial vaginosis by topical application of polyvalent bacteriophages.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A prospective study involving 120 female patients from 18 to 45 years old with complaints of abnormal vaginal discharge, diagnosis of BV confirmed by the Amsel criteria was performed. The patients were divided into 4 groups of 30 people, depending on the treatment regimen for BV: group 1 – metronidazole (gel) intravaginally + preparation Phagogyn (gel), polyvalent bacteriophage (PVB) for topical application; group 2 – clindamycin (cream) intravaginally + Phagogyn for topical application; group 3 – chlorhexidine gluconate (vaginal tablets) + Phagogyn for topical application; group 4 – Elzhina (ornidazole 500 mg, neomycin 65 000 U, prednisolone 3 mg, econazole 100 mg) + Phagogyn for topical application.

R e s u l t s . 10–14 days after the treatment, the effectiveness of metronidazole for vaginal application in combination with Phagogyn according to the Amsel criteria was 60.00%, clindamycin intravaginally in combination with Phagogyn – 73.33%, chlorhexidine gluconate intravaginally with Phagogyn – 43.33%, Elzhina + Phagogyn – 96.67%.

C o n c l u s i o n . The combination of Elzhina with Phagogyn is feasible for use in clinical practice to achieve better results in the treatment of BV, since this combination turned out to be the most effective.

Keywords: bacterial vaginosis, bacteriophage, phage therapy, combination therapy, metronidazole, clindamycin, chlorhexidine, Elzhina, Phagogyn.

Citation example: Piletskaya U.V., Marinkin I.O., Makarov K.Yu., Sokolova T.M. An approach to the treatment of bacterial vaginosis using a bacteriophage cocktail. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):113-123. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-113-123

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальный вагиноз (БВ) представляет собой инфекционный невоспалительный процесс, который относится к самым распространенным из заболеваний женской половой системы. По различным данным частота встречаемости БВ в популяциях составляет от 12 до 80 % [1].

Общепризнанными факторами развития БВ являются: заболевания и состояния, приводящие к иммунодефициту: авитаминоз, стрессы, хронические заболевания, длительный прием антибиотиков и т.д.; использование внутриматочных контрацептивов, местных контрацептивных препаратов, влагалищные спринцевания и т.п., что приводит к угнетению местного иммунитета; гормональная терапия и возрастные гормональные изменения и связанная с этим дисфункция яичников; активная половая жизнь с несколькими половыми партнерами; инфекционные заболевания влагалища [2].

Основными методами диагностики бактериального вагиноза в развитых странах являются рН-метрия, аминный тест и микроскопия влагалищного мазка. Однако данные методы обладают низкой чувствительностью, что связано с их субъективностью, отсутствием надлежащей подготовки в области микроскопии. Молекулярные методы амплификационной диагностики обладают большей чувствительностью и специфичностью в диагностике БВ [3]. Чувствительность критериев R. Amsel для диагностики БВ составляет 92 % и специфичность – 77 % [4]. Метод «Фемоф-

INTRODUCTION

Bacterial vaginosis (BV) is an infectious non-inflammatory disease that is one of the most common diseases of the female reproductive system. According to various data, the incidence of BV in populations ranges from 12 to 80% [1].

Well-recognized factors for the development of BV are: diseases and conditions leading to immunodeficiency: vitamin deficiency, stress, chronic diseases, long-term use of antibiotics, etc.; the use of intrauterine devices, spermicidal contraceptives, vaginal douching, etc., which leads to local immune suppression; hormonal therapy and age-related hormonal changes, associated with ovarian dysfunction; sexual activity involving several partners; vaginal infectious diseases [2].

The main methods for diagnosing bacterial vaginosis in developed countries are pH-metry, the amine whiff test and vaginal smear microscopy. However, these methods have low sensitivity, which is due to their subjectivity and lack of appropriate training in the field of microscopy. Molecular amplification-based diagnostic methods have greater sensitivity and specificity in diagnosing BV [3]. The sensitivity of the Amsel criteria for diagnosing BV is 92% and the specificity is 77% [4]. The Femoflor test allows to compare the content of specific representatives of normal and opportunistic vaginal microflora with the total bacterial load (TBL) using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). The method has high sensitivity and specificity and enables the detection of anaerobic microflora [5].

лор» позволяет сравнивать содержание конкретных представителей нормо- и условно-патогенной микробиоты с общей бактериальной массой (ОБМ) с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью и позволяет выявлять анаэробную флору [5].

Необходимость лечения БВ вызвана тем, что в 40–50 % случаев он приводит к вагинитам, является фактором риска для возникновения рака шейки матки, ВИЧ-инфицирования и других инфекций, передающихся половым путем [6–12]. Нитрозамины, как продукты метаболизма анаэробов, также являются самостоятельными коферментами канцерогенеза [13].

На сегодняшний день антибактериальная терапия является основой лечения БВ [14]. Для снижения частоты вероятных осложнений предпочтительнее применять препараты местного действия (интравагинальные). Также местное применение антибактериальных препаратов характеризуется простотой и удобством [15, 16].

Комбинации из бактериофагов и антибиотиков увеличивают эффективность лечения, появляется синергизм, приводящий к быстрой эрадикации патогенных бактерий при использовании сублетальных концентраций антибиотиков и фага, часто с увеличением вирулентности фагов. Комбинация бактериофага с антибиотиком может профилактировать образование резистентных бактерий [17]. Использование антибактериальных препаратов совместно с бактериофагом способствует быстрому разрушению биопленок и эффективной эрадикации возбудителя. Это обуславливает меньшую антибактериальную нагрузку на организм [18, 19].

Поликомпонентные препараты бактериофагов наиболее удобны для применения, так как монокомпонентные препараты можно использовать только после определения чувствительности бактерий к конкретному фагу [20].

Изучение фагочувствительности условно-патогенной флоры у женщин с БВ на примере 53 женщин репродуктивного периода показало, что в целом микробиота биотопа более чувствительна к гелевой форме бактериофага (91 %) по сравнению с жидкими формами [21].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Улучшение результатов лечения женщин репродуктивного возраста с БВ путем добавления к традиционному лечению препаратов поливалентных бактериофагов.

The need for treatment of BV is due to the fact that in 40–50% of cases it leads to vaginitis and is a risk factor for cervical cancer, HIV infection and other sexually transmitted infections [6–12]. Nitrosamines, as products of anaerobic metabolism, are also independent coenzymes of carcinogenesis [13].

Today, antibacterial therapy is the mainstay of BV treatment [14]. To reduce the number of possible complications, it is preferable to use topical (intra-vaginal) drugs. Also, topical use of antibacterial drugs is characterized by simplicity and convenience [15, 16].

Combinations of bacteriophages and antibiotics increase the effectiveness of treatment; synergy arises leading to rapid eradication of pathogenic bacteria when using sublethal concentrations of antibiotics and phage, often with an increase in phage virulence. The combination of a bacteriophage with an antibiotic can prevent the development of resistant bacteria [17]. The use of antibacterial drugs in combination with a bacteriophage promotes the rapid destruction of biofilms and effective eradication of the pathogen. This results in a lower unfavorable antibacterial load on the body [18, 19].

Multicomponent preparations of bacteriophages are most convenient for use since monocomponent preparations can be applied only after determining the sensitivity of bacteria to a specific phage [20].

A study of the phage sensitivity of opportunistic microflora in women with BV using the example of 53 female patients of reproductive-period showed that, in general, the microbiota of the biotope is more sensitive to bacteriophage as a gel form (91%) compared to liquid dosage forms [21].

AIM OF THE RESEARCH

Improving treatment outcomes for women of reproductive age with BV by adding polyvalent bacteriophages to conventional treatment.

MATERIALS AND METHODS

A study was carried out in 2018–2023 at the clinical bases of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Novosibirsk State Medical University (NSMU): City Outpatient Clinic No. 1, Novosibirsk (Antenatal Clinic of the Central District), NSMU Medical Consultative Center clinic, and also on the basis of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk. The study involved 120 patients aged 18 to 45 years. Inclusion criteria were: visiting the antenatal clinic with complaints of abnormal vaginal discharge, diagnosis of BV, confirmed by the Amsel criteria at the initial consulta-

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в 2018–2023 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» (ФГБОУ ВО НГМУ); ГАУЗ НСО «Городская клиническая поликлиника № 1» г. Новосибирска (женская консультация Центрального района), клиника «Медицинский консультативный центр» ФГБОУ ВО НГМУ, а также на базе Института химической биологии и фундаментальной СО РАН. В исследовании приняли участие 120 пациенток в возрасте от 18 до 45 лет. Критерии включения: обращение в женскую консультацию с жалобами на патологические выделения из половых путей, наличие БВ, подтвержденного критериями R. Amsel при первичном приеме. Критерии исключения: возраст менее 18 лет и старше 45 лет; беременность и подозрение на нее; целостность девственной плевы; аномалии половых органов; несостоятельность мышц тазового дна; выявленные инфекции, передающиеся половым путем; обнаружение антител к *Treponema pallidum*, HBsAg, HCV, ВИЧ; острые воспалительные заболевания матки, придатков, выявленные по объективным данным и результатам ультразвукового исследования.

На первом визите пациентки подписывали информированное согласие, проводилась проверка соответствия критериям включения. После проведения бактериоскопического исследования отделяемого заднего свода влагалища, рН-метрии влагалищных выделений и аминного теста с отделяемым заднего свода влагалища и подтверждения по критериям R. Amsel диагноза «бактериальный вагиноз» проводили анализ влагалищного биоценоза методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени – «Фемофлор-16».

Далее в зависимости от применяемого метода лечения пациентки были разделены на 4 группы:

1-я ($n = 30$) – лечение метронидазолом в гелевой форме (0.75 %) интравагинально по 5 мл 1 раз в сутки в течение 5 дней совместно с препаратом поливалентного бактериофага (ПВБ) «Фагогин» для местного применения на область наружных половых органов 3 мл 2 раза в сутки в течение 14 дней;

2-я ($n = 30$) – лечение клиндамицином: крем 2% 5.0 г интравагинально 1 раз в сутки в течение 7 дней совместно с препаратом ПВБ «Фагогин» для местного применения на область наружных половых органов 3 мл 2 раза в сутки в течение 14 дней;

Exclusion criteria were: age under 18 years and over 45 years; pregnancy and suspected pregnancy; hymenal integrity; genital abnormalities; deficient perineum; identified sexually transmitted infections; detection of antibodies to *Treponema pallidum*, HBsAg, HCV, HIV; acute inflammatory diseases of the uterus and adnexa, identified by clinical data and results of ultrasound.

At the first visit, the patients signed an informed consent, and compliance with the inclusion criteria was checked. After bacterioscopic examination of the posterior vaginal vault discharge, pH-metry of vaginal discharge and the amine whiff test of the posterior vaginal vault and confirmation of the diagnosis of bacterial vaginosis according to the Amsel criteria, an analysis of the vaginal biocenosis was carried out using the Femoflor 16 real-time polymerase chain reaction test.

Further, depending on the treatment regimen, the patients were divided into 4 groups:

group 1 ($n = 30$) – metronidazole, gel (0.75%) intravaginally, 5 ml once a day for 5 days + Phagogyn, polyvalent bacteriophage (PVB) for topical application to the external genital area 3 ml twice a day for 14 days;

group 2 ($n = 30$) – clindamycin, cream (2%), 5.0 g intravaginally once a day for 7 days + Phagogyn for topical application to the external genital area 3 ml twice a day for 14 days;

group 3 ($n = 30$) – chlorhexidine gluconate, 16 mg, 1 vaginal tablet twice a day for 7 days + Phagogyn for topical use on the external genital area 3 ml twice a day for 14 days;

group 4 ($n = 30$) – Elzhina (ornidazole 500 mg, neomycin 65 000 U, prednisolone 3 mg, econazole 100 mg) 1 vaginal tablet once a day for 6 days + Phagogyn for topical application to the of external genital area 3 ml twice a day for 14 days.

At the second visit, after 10–14 days, a control examination of the patients was carried out, which included bacterioscopy of vaginal smears, the amine whiff test, measurement of pH of the posterior vaginal vault discharge, as well as an analysis of the vaginal biocenosis using RT-PCR. Adverse reactions were identified, the proportion of patients that were completely cured was determined, cases of ineffective therapy were recorded; the percentage of complications treatment was assessed.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean age of the patients included in the study was 28.86 ± 7.20 years. There was no statistically significant difference in age between the groups. An examination was carried out on the day when the

3-я ($n = 30$) – лечение хлоргексидином биглюконатом: 16 мг по 1 вагинальной таблетке 2 раза в сутки в течение 7 дней совместно с препаратом ПВБ «Фагогин» для местного применения на область наружных половых органов 3 мл 2 раза в сутки в течение 14 дней;

4-я ($n = 30$) – лечение препаратом орнидазола 500 мг, неомицина 65 000 ЕД, преднизолона 3 мг, эконазола 100 мг (ОНПЭ) («Эльжина») по 1 таблетке во влагалище 1 раз в сутки в течение 6 дней совместно с ПВБ «Фагогин» для местного применения на область наружных половых органов 3 мл 2 раза в сутки в течение 14 дней.

На втором визите, через 10–14 дней проводилось контрольное обследование пациенток, включавшее бактериоскопическое исследование влагалищных мазков, аминный тест, измерение pH отделяемого заднего свода влагалища, а также анализ влагалищного биоценоза методом ПЦР-РВ. Выявляли нежелательные реакции, определяли долю пациенток с полной излеченностью и регистрировали случаи неэффективности проведенной терапии, а также оценивали процент развившихся осложнений после лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил 28.86 ± 7.20 года. Статистически значимого различия по возрасту в группах не было. Обследование проводилось в день назначения лечения, на 7-й день и через 10–14 дней после лечения.

Пациентки всех групп предъявляли жалобы на патологические выделения из половых путей. Достоверных различий по критериям R. Amsel до лечения не было ($p > 0.05$).

По данным ПЦР-РВ относительный нормоценоз определялся в 26.67 % случаев в каждой группе. Достоверных различий в обнаружении дисбиозов в исследуемых группах выявлено не было ($p > 0.05$). Результаты интерпретировались следующим образом: умеренное отклонение от критериев нормы – умеренный дисбиоз, выраженное отклонение от критериев нормы – выраженный дисбиоз; типы дисбиоза: аэробный, анаэробный и смешанный дисбиоз – определялись на основании превышения пороговых значений микроорганизмов [22].

Количество бактерий по данным ПЦР-РВ было идентичным в исследуемых подгруппах ($p = 1.0$).

В структуре представителей облигатно-анаэробной флоры, ассоциированной с бактериальным вагинозом, преобладали *Gardnerella*

treatment was assigned, on the 7th day and 10–14 days after treatment.

Patients of all groups complained of abnormal vaginal discharge. There were no significant differences according to the Amsel criteria at baseline ($p > 0.05$).

According to the results of RT-PCR, relative normocenosis was determined in 26.67% of cases in each group. There were no significant differences for dysbiosis in the study groups ($p > 0.05$). The results were interpreted as follows: moderate deviation from the reference range is moderate dysbiosis; pronounced deviation from the reference values is pronounced dysbiosis; types of dysbiosis: aerobic, anaerobic and combined dysbiosis were determined based on exceeding the reference values of microorganisms [22].

Bacterial count according to RT-PCR data was identical in the study subgroups ($p = 1.0$).

Gardnerella vaginalis + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* predominated in the structure of representatives of the obligate anaerobic flora associated with bacterial vaginosis; there were no significant differences in their detection for groups ($p = 0.22$). Differences in the groups were significant in the detection of *Eubacterium* spp. due to higher count of these pathogens in group 3 ($p = 0.001$); *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. – higher count in groups 1 and 4 ($p = 0.001$), as well as *Atopobium vaginae* – to maximal count in groups 2 and 4 ($p < 0.001$). Taking into account the fact that, according to the current understanding of bacterial vaginosis, the formation of the biofilm of *Gardnerella vaginalis* plays a key role in the pathogenesis of BV and the presence of *Gardnerella* in the biofilm is a characteristic feature only of bacterial vaginosis, although the disease is polyetiological, we can conclude that the sample is representative [15].

In group 1, all patients had an increase in pH (5.8 ± 0.66) of vaginal discharge being examined using the Colpo-test strips. The amine whiff test was positive in 28 (93.33%) patients. The mean white blood cell count in the posterior vaginal vault during microscopy was 5.66 ± 4.05 ; clue cells were identified in 28 samples (93.33%). In bacteriologic culture, the opportunistic pathogens were not detected. 10 days after the end of the treatment, the symptoms of the disease disappeared completely in 18 women (60.00%). The amine whiff test was positive in 5 cases (16.67%) ($p < 0.001$); clue cells during microscopy of vaginal smears were found in 5 patients (16.67%) ($p < 0.001$); fungal mycelium – in 6 (20.00%). The mean white blood cell count in smears was 5.70 ± 6.57 . Bacteriological examination

vaginalis + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas*, достоверных различий в их обнаружении в подгруппах не было ($p = 0.22$). Различия в подгруппах были достоверны при выявлении *Eubacterium* spp. за счет большего выявления данных возбудителей в 3-й группе ($p = 0.001$), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. за счет большего выявления в группах 1 и 4 ($p = 0.001$), а также *Atopobium vaginae* за счет наибольшего количества во 2-й и 4-й группах ($p < 0.001$). С учетом того, что, согласно современным представлениям о бактериальном вагинозе, образование биопленки *Gardnerella vaginalis* играет ключевую роль в патогенезе БВ и присутствие гарднереллы в биопленке является характерной особенностью именно бактериального вагиноза, хотя заболевание и является полиэтиологичным, можно сделать вывод о том, что выборка является репрезентативной [15].

В 1-й группе у всех обследованных было выявлено повышение рН (5.8 ± 0.66) влагалищного содержимого с использованием тест-полосок «Кольпо-тест». Аминотест оказался положительным у 28 (93.33 %) пациенток. Среднее количество лейкоцитов в заднем своде влагалища при микроскопии влагалищных мазков составило 5.66 ± 4.05 , ключевые клетки выявлены в 28 пробах (93.33 %). В посевах на условно-патогенную микрофлору возбудители не выявлены. Через 10 дней после окончания лечения симптомы заболевания полностью исчезли у 18 женщин (60.00 %). Аминотест оказался положительным в 5 случаях (16.67 %) ($p < 0.001$), ключевые клетки при микроскопии влагалищных мазков обнаружены у 5 пациенток (16.67 %) ($p < 0.001$), мицелий грибов – у 6 (20.00 %). Среднее число лейкоцитов в мазке составило 5.70 ± 6.57 . При бактериологическом исследовании отделяемого заднего свода влагалища были выявлены *Candida albicans* у 6 пациенток (20.00 %), *Enterococcus faecalis* – у 1 (3.33 %). По данным ПЦР-РВ добиться нормоценоза удалось у 23 (76.67 %) ($p < 0.001$) пациенток, количество *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* в отношении более 11 % к общей ОБМ сократилось до 2 (6.67 %) случаев ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. – до 4 (13.33 %) ($p = 0.003$). Также достоверно уменьшилось содержание *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. и *Atopobium vaginae* в отделяемом заднего свода влагалища ($p < 0.05$).

Таким образом, эффективность метронидазола для вагинального применения в комплексном применении с ПВБ на основании критериев

of the posterior vault discharge revealed *Candida albicans* in 6 patients (20.00%), *Enterococcus faecalis* in 1 (3.33%). According to RT-PCR data, normocenosis was achieved in 23 (76.67%) ($p < 0.001$) patients; *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* count in relation to more than 11% of TBL decreased to 2 (6.67%) cases ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. – to 4 (13.33%) ($p = 0.003$). The number of *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. and *Atopobium vaginae* also significantly decreased in the posterior vault discharge ($p < 0.05$).

Thus, the effectiveness of metronidazole for vaginal application in combination with PVB according to Amsel criteria was 60.00%. In 5 (16.67%) patients, the drugs did not show their effectiveness. In 6 (20.00%) cases, the use of metronidazole in combination with PVB caused vulvovaginal candidiasis, and in 1 (3.33%) patient – vaginitis.

When examining the posterior vaginal vault discharge in patients of group 2, the amine whiff test was positive in 29 (96.67%) women; clue cells were found in 28 (93.33%). An increase in pH was recorded in all patients – 5.70 ± 0.70 . The mean white blood cell count in smears from the posterior vaginal vault was 5.0 ± 3.50 per field of view. In the microbial culture of the posterior vaginal vault for opportunistic flora, the pathogen was not detected in any of the patients. After 10 days, the symptoms resolution was in 22 (73.33%) patients ($p < 0.001$). In all patients during microscopy of smears from the posterior vaginal vault, the mean white blood cell count was 5.13 ± 3.67 ; the amine whiff test remained positive in 4 (13.33%) ($p < 0.001$); clue cells were found in 4 (13.33%) ($p < 0.001$), fungal mycelium – in 3 (10%). Bacteriological examination of the posterior vault discharge revealed *Candida albicans* in 3 (10%) patients, *Escherichia coli* – in 1 (3.33%). According to the results of RT-PCR, 25 patients (83.33%) achieved normocenosis and lactobacilli count in the ratio of 51–100% to TBL ($p < 0.001$). A decrease in *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. ($p = 0.01$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.004$), *Peptostreptococcus* spp. ($p = 0.008$), *Atopobium vaginae* ($p = 0.003$) count in the posterior vault discharge was found after the treatment.

Thus, the effectiveness of clindamycin for vaginal application in combination with PVB according to the Amsel criteria was 73.33%. The scheme did not show effectiveness in 4 (13.33%) patients. Vulvovaginal candidiasis because of the use of clindamycin in

R. Amsel составила 60.00 %. У 5 (16.67 %) исследуемых препараты не показали свою эффективность. В 6 (20.00 %) случаях применение метронидазола в комплексе с ПВБ спровоцировало вульвовагинальный кандидоз, а у 1 (3.33 %) пациентки развился вагинит.

При исследовании отделяемого заднего свода влагалища у пациенток 2-й группы аминотест оказался положительным у 29 (96.67 %) женщин, ключевые клетки обнаружены у 28 (93.33 %). Повышение pH зарегистрировано у всех обследованных – 5.70 ± 0.70 . Среднее количество лейкоцитов в отделяемом заднего свода влагалища – 5.0 ± 3.50 в поле зрения. В посеве отделяемого заднего свода влагалища на условно-патогенную флору возбудитель не выявлен ни у одной из пациенток. Через 10 дней симптомы заболевания полностью регрессировали у 22 (73.33 %) пациенток ($p < 0.001$). У всех обследованных при микроскопии отделяемого заднего свода влагалища среднее число лейкоцитов составило 5.13 ± 3.67 , аминотест остался положительным у 4 (13.33 %) ($p < 0.001$), ключевые клетки обнаруживались у 4 (13.33 %) ($p < 0.001$), мицелий грибов – у 3 (10 %). При бактериологическом исследовании влагалищного отделяемого у 3 (10 %) пациенток выявлены *Candida albicans*, *Escherichia coli* – у 1 (3.33 %). При проведении обследования методом ПЦР-РВ достижение нормоценоза и содержания лактобактерий в отношении 51–100 % к ОБМ было у 25 (83.33 %) пациенток ($p < 0.001$). Было достигнуто уменьшение количества *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyrromonas* ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. ($p = 0.01$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.004$), *Peptostreptococcus* spp. ($p = 0.008$), *Atopobium vaginae* ($p = 0.003$) в отделяемом заднего свода после санации.

Таким образом, эффективность клиндамицина для влагалищного применения совместно с ПВБ по данным критериев R. Amsel составила 73.33 %. Схема не показала эффективности у 4 (13.33 %) обследованных. Вульвовагинальный кандидоз на фоне применения клиндамицина совместно с ПВБ развился у 3 пациенток (10 %), вагинит – у 1 (3.33 %).

При исследовании отделяемого заднего свода влагалища у пациенток 3-й группы аминотест был положительным у 28 женщин (93.33 %), ключевые клетки при микроскопии обнаружены у 26 (86.67 %). У всех женщин pH влагалищного отделяемого было высоким – 5.9 ± 0.8 , среднее число лейкоцитов – 6.03 ± 3.58 . При бактериоло-

combination with PVB developed in 3 patients (10%), vaginitis – in 1 (3.33%).

In patients of group 3, the amine whiff test of the samples from the posterior vaginal vault was positive in 28 women (93.33%); clue cells during microscopy were detected in 26 (86.67%). In all women, pH of the vaginal discharge was high – 5.9 ± 0.8 ; the mean white blood cell count was 6.03 ± 3.58 . On bacteriological examination of the posterior vault discharge for opportunistic flora, no pathogens were found in any patients. 10 days after the end of the treatment, the complete resolution of the symptoms of the disease was in 13 women (43.33%) ($p < 0.001$). The amine whiff test remained positive in 9 (30.00%) ($p < 0.001$) patients. According to the results of bacteriological examination, clue cells remained in 9 (30.00%) patients ($p < 0.001$), fungal mycelium – in 6 (20.00%); the mean white blood cell count was 5.83 ± 4.71 . In the microbial culture from the posterior vaginal vault *Candida albicans* was revealed in 6 (20%) samples, *Streptococcus* spp. – in 1 (3.33%). According to the results of RT-PCR, normocenosis was achieved in 19 (63.33%) patients ($p = 0.001$); the number of lactobacilli in the ratio of 51–100% to TBL was 70% ($p < 0.001$). A decrease in *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyrromonas* ($p < 0.001$) to 10% in relation to 11% or more to TBL, as well as *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.005$) and *Atopobium vaginae* ($p = 0.008$) was achieved.

Thus, the effectiveness of chlorhexidine gluconate for vaginal application use in combination with PVB was 43.33% according the Amsel criteria. The combination proved to be ineffective in 9 (30%) patients. Vulvovaginal candidiasis occurred in 6 (20%) patients, vaginitis – in 2 (6.67%).

In group 4, all patients had a positive amine whiff test of the vaginal discharge, pH was increased – 6.17 ± 0.38 . On bacterioscopy of the smear from the posterior vault, clue cells were found in all patients; white blood cell count was 5.70 ± 4.19 . On bacteriological examination of the vaginal discharge for opportunistic flora, pathogens were not revealed. After 10 days of treatment with Elzhina in combination with PVB, 29 (96.67%) patients noted the complete reverse of symptoms ($p < 0.001$). The amine whiff test remained positive in 1 (3.33%) case ($p < 0.001$); clue cells during bacterioscopy of vaginal smears were found in 1 (3.33%) case ($p < 0.001$). The mean white blood cell count in smears was 4.53 ± 3.04 . Bacteriological examination of the vaginal discharge did not reveal growth of pathogenic microflora. According to the results of RT-PCR, in 29

гическом исследовании отделяемого заднего свода влагалища на условно-патогенную флору возбудители не обнаружены ни у одной из обследованных. Через 10 дней после окончания лечения симптомы заболевания полностью регрессировали у 13 женщин (43.33 %) ($p < 0.001$). Аминотест остался положительным у 9 (30.00 %) ($p < 0.001$) пациенток. При бактериоскопическом исследовании ключевые клетки сохранялись у 9 (30.00 %) пациенток ($p < 0.001$), мицелий грибов – у 6 (20.00 %), среднее число лейкоцитов составило 5.83 ± 4.71 . В бактериологическом посеве отделяемого заднего свода влагалища обнаружены *Candida albicans* в 6 (20 %) пробах, *Streptococcus* spp. – в 1 (3.33 %). По результатам ПЦР-РВ нормоценоза удалось добиться у 19 (63.33 %) пациенток ($p = 0.001$), количество лактобактерий в отношении 51–100 % к ОБМ составило 70 % ($p < 0.001$). Удалось добиться снижения *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p < 0.001$) до 10 % в отношении 11 % и более к ОБМ, а также *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.005$) и *Atopobium vaginae* ($p = 0.008$).

Таким образом, эффективность хлоргексидина биглюконата для вагинального применения с ПВБ составила по данным критериев R. Amsel 43.33 %. Неэффективна комбинация оказалась у 9 (30 %) пациенток. Вульвовагинальный кандидоз возник у 6 (20 %) пациенток, вагинит – у 2 (6.67 %).

В 4-й группе у всех обследованных был положительным аминотест с влагалищным отделяемым, рН повышен – 6.17 ± 0.38 . При бактериоскопии отделяемого заднего свода влагалища у всех пациенток обнаружены ключевые клетки, среднее число лейкоцитов составило 5.70 ± 4.19 . При бактериологическом исследовании влагалищного содержимого на условно-патогенную микрофлору возбудители не выявлены. Через 10 дней после окончания лечения препаратом ОНПЭ совместно с ПВБ 29 (96.67 %) пациенток отметили полное исчезновение симптомов заболевания ($p < 0.001$). Положительный аминотест сохранился в 1 (3.33 %) случае ($p < 0.001$), ключевые клетки при микроскопии влагалищных мазков обнаружены в 1 (3.33 %) случае ($p < 0.001$). Среднее число лейкоцитов в мазке – 4.53 ± 3.04 . При бактериологическом исследовании содержимого влагалища роста патогенной микрофлоры не выявлено. По результатам исследования ПЦР-РВ у 29 (96.67 %) женщин достигнут нормоценоз ($p < 0.001$) и количество лактобактерий в отношении 51–100 % к ОБМ

(96.67%) women, the normocenosis ($p < 0.001$) and the count of lactobacilli with the ratio of 51–100% to TBL ($p < 0.001$) were achieved. A significant decrease in *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. ($p = 0.003$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.003$), *Peptostreptococcus* spp. ($p = 0.01$) and *Atopobium vaginae* ($p = 0.003$) count in samples from the posterior vaginal vault discharge was achieved.

Thus, the effectiveness of the combined drug Elzhina together with PVB was 96.67%. This drug combination proved to be ineffective in 1 (3.33%) patient.

10–14 days after the treatment, significant differences were revealed in all four groups according to the Amsel criteria ($p < 0.05$). Abnormal vaginal discharge, clue cells, positive amine whiff test and pH > 4.5 were recorded significantly less often in group 4.

According to the results of RT-PCR, 10–14 days after the treatment, the indicators of normocenosis significantly differed in the groups ($p < 0.05$). Normocenosis was more often detected in group 4 compared to group 1. There were no significant differences in relation to groups 2 and 3.

The lactobacilli count in the posterior vaginal vault discharge also differed significantly in the ratio of 0–10% to TBL in the groups after the treatment ($p < 0.05$). These differences are due to the difference between group 4 and groups 1 and 3.

Differences in the detection of representatives of anaerobic flora after the treatment were found for *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p = 0.01$) due to a significantly lower count in group 4. There were also differences in *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.04$) detection due to the absence of these pathogens in groups 2 and 4 after the treatment. The detection of *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp. ($p = 0.05$) varied: it was the highest in group 1.

CONCLUSION

The effectiveness of metronidazole for vaginal application in combination with PVB according to the Amsel criteria was 60.00% (group 1); clindamycin for vaginal use together with PVB – 73.33% (group 2), chlorhexidine gluconate for vaginal application in combination with PVB – 43.33% (group 3), the combined drug, Elzhina with PVB – 96.67% (group 4). According to the result of RT-PCR, the effectiveness was assessed in achieving normocenosis and was 76.67% in group 1, 83.33% – in group 2,

($p < 0.001$). Удалось достигнуть достоверно значимого уменьшения *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p < 0.001$), *Eubacterium* spp. ($p < 0.001$), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. ($p = 0.003$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.003$), *Peptostreptococcus* spp. ($p = 0.01$) и *Atopobium vaginae* ($p = 0.003$) в отделяемом заднего свода влагалища.

Таким образом, эффективность комплексного препарата ОНПЭ совместно с ПВБ составила 96.67 %. Неэффективна комбинация препаратов оказалась у 1 (3.33 %) пациентки.

Через 10–14 дней после лечения во всех четырех группах были выявлены достоверные различия по критериям R. Amsel ($p < 0.05$). Достоверно реже патологические выделения из половых путей, ключевые клетки, положительный аминотест и значенные рН > 4.5 регистрировались в 4-й группе.

По данным ПЦР-РВ через 10–14 дней после лечения достоверно различались показатели нормоценоза в исследуемых подгруппах ($p < 0.05$). Нормоценоз чаще был выявлен в 4-й группе по отношению к 1-й группе. По отношению к группам 2 и 3 достоверных различий выявлено не было.

Также достоверно различалось количество обнаруженных лактобактерий в заднем своде влагалища в отношении 0–10 % к ОБМ в группах после лечения ($p < 0.05$). Данные различия обусловлены разницей между 4-й группой и группами 1 и 3.

Различия в обнаружении представителей анаэробной флоры после лечения были выявлены в отношении *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* ($p = 0.01$) за счет достоверно меньшей частоты их обнаружения в 4-й группе. Также различались показатели *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p = 0.04$) за счет отсутствия данных возбудителей во 2-й и 4-й группах после проведенной терапии. Различалась выявляемость *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp. ($p = 0.05$) – она была самая высокая в 1-й группе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н. и др. Гинекология. Национальное руководство. Краткое издание. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2020. 1056 с.
2. Чилова Р.А., Проклова Г.Ф., Гончаренко Н.В. Проблемы дифференциальной диагностики и лечения бактериального вагиноза // РМЖ. Мать и дитя. 2020;3(1):39-43 DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-39-43.

63.33% – in group 3, and 96.67% – in group 4. The combination of Elzhina with PVB showed the maximal effectiveness which is due to the comprehensive action of Elzhina; the minimal effectiveness showed the combination of chlorhexidine gluconate with PVB, since chlorhexidine is an antiseptic that is active against viral particles that are part of PVB.

Thus, to achieve better results in BV treatment, the use of Elzhina with PVB, Phagogyn combination is feasible in clinical practice.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность метронидазола для вагинального применения в комбинации с ПВБ на основании критериев R. Amsel составила 60.00 % (1-я группа), клиндамицина для влагалищного применения совместно с ПВБ – 73.33 % (2-я группа), хлоргексидина биглюконата для вагинального применения в комбинации с ПВБ – 43.33 % (3-я группа), комплексного препарата ОНПЭ совместно с ПВБ – 96.67 % (4-я группа). По данным ПЦР-РВ эффективность оценивалась в достижении нормоценоза и составляла в 1-й группе 76.67 %, во 2-й – 83.33 %, в 3-й – 63.33 %, в 4-й группе – 96.67 %. Наибольшую эффективность показала комбинация препаратов ОНПЭ и ПВБ, что обусловлено комплексным действием ОНЭП, наименьшую – комбинация хлоргексидина биглюконата с ПВБ, так как хлоргексидин является антисептиком, активным в отношении вирусных частиц, входящих в состав ПВБ.

Таким образом, комбинацию препаратов ОНПЭ «Эльжина» и ПВБ «Фагогин» целесообразно использовать в клинической практике для достижения лучших результатов терапии БВ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Saveleva G.M., Sukhikh G.T., Serov V.N. et al. (2020). *Gynecology. National Guidelines. Brief 2nd edition*. Moscow. 1056 p. (In Russ.)
2. Chilova R.A., Proklova G.F., Goncharenko N.V. Differential diagnosis and treatment for bacterial vaginosis. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2020;3(1):39-43 DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-39-43. (In Russ.)

3. Schwebke J.R., Taylor S.N., Ackerman R. et al. Clinical validation of the aptima bacterial vaginosis and aptima *Candida/Trichomonas* vaginitis assays: results from a prospective multicenter clinical study // *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(2):e01643-19. DOI: 10.1128/JCM.01643-19.
4. Пустотина О.А. Бактериальный вагиноз: патогенез, диагностика, лечение и профилактика // *Акушерство и гинекология.* 2018;3:150-156. DOI: 10.18565/aig.2018.3.150-156.
5. Подгорная А.В., Махмутходжаев А.Ш. Бактериальное и антимикробное звенья неспецифического иммунитета влагалища при рецидивирующем бактериальном вагинозе у беременных женщин // *Акушерство и гинекология.* 2016;12:66-69. DOI: 10.18565/aig.2016.12.66-69.
6. Хурасева А.Б., Реминная Т.В. Бактериальный вагиноз – что за зверь? // *Региональный вестник.* 2020;2(41):3-4.
7. Шмакова Н.А., Чистякова Г.Н., Кононова И.Н., Ремизова И.И. Особенности цервик-вагинального микробиоценоза с определением видового состава лактобактерий у пациенток с цервикальными интраэпителиальными неоплазиями // *Лечение и профилактика.* 2020;10(3):30-35.
8. Donders G., Bellen G., Donders F. et al. Improvement of abnormal vaginal flora in Ugandan women by self-testing and short use of intravaginal antimicrobials // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;36(4):731-738. DOI: 10.1007/s10096-016-2856-9.
9. Kero K., Rautava J., Syrjänen K. et al. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;36(11):2215-2219. DOI: 10.1007/s10096-017-3048-y.
10. Eastment M.C., McClelland R.S. Vaginal microbiota and susceptibility to HIV // *AIDS.* 2018;32(6):687-698. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001768.
11. Coudray M.S., Madhivanan P. Bacterial vaginosis – A brief synopsis of the literature // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020;245:143-148. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2019.12.035.
12. Тихомиров А.Л., Сарсания С.И., Казенасhev В.В. Ключевые аспекты терапии бактериального вагиноза // *Доктор.Ру.* 2020;19(8):86-90. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-86-90.
13. Боровиков И.О., Куценко И.И., Рубинина Э.Р. и др. Препреконцепционная подготовка пациенток со смешанным вагинальным дисбиозом // *РМЖ. Мать и дитя.* 2019;2(2):113-119 DOI: 10.32364/2618-8430-2019-2-2-113-119.
14. Faught B.M., Reyes S. Characterization and treatment of recurrent bacterial vaginosis // *J. Womens Health (Larchmt).* 2019;28(9):1218-1226. DOI: 10.1089/jwh.2018.7383.
15. Javed A., Parvaiz F., Manzoor S. Bacterial vaginosis: An insight into the prevalence, alternative treatments regimen and it's associated resistance patterns // *Microb. Pathog.* 2019;127:21-30. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.11.046.
16. Дмитрук В.С., Денисов А.А., Лушников П.А. Современные возможности эффективного комбинированного лечения вульвовагинального кандидоза и бактериального вагиноза // *Клиническая дер-*
3. Schwebke J.R., Taylor S.N., Ackerman R. et al. Clinical validation of the aptima bacterial vaginosis and aptima *Candida/Trichomonas* vaginitis assays: results from a prospective multicenter clinical study. *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(2):e01643-19. DOI: 10.1128/JCM.01643-19.
4. Pustotina O.A. Bacterial vaginosis: pathogenesis, diagnosis, treatment, and prevention. *Obstetrics and Gynecology.* 2018;3:150-156. DOI: 10.18565/aig.2018.3.150-156. (In Russ.)
5. Podgornaya A.V., Makhmutkhodzhaev A.Sh. The bacterial and antimicrobial components of nonspecific vaginal immunity in pregnant women with recurrent bacterial vaginosis. *Obstetrics and Gynecology.* 2016;12:66-69. DOI: 10.18565/aig.2016.12.66-69. (In Russ.)
6. Khuraseva A.B., Reminnaya T.V. Bacterial vaginosis: what is it? *Regional Annals.* 2020;2(41):3-4. (In Russ.)
7. Shmakova N.A., Chistyakova G.N., Kononova I.N., Remizova I.I. Features of cervico-vaginal microbiocenosis with determination of the species composition of lactobacilli in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Treatment and Prevention.* 2020;10(3):30-35. (In Russ.)
8. Donders G., Bellen G., Donders F. et al. Improvement of abnormal vaginal flora in Ugandan women by self-testing and short use of intravaginal antimicrobials. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;36(4):731-738. DOI: 10.1007/s10096-016-2856-9.
9. Kero K., Rautava J., Syrjänen K. et al. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;36(11):2215-2219. DOI: 10.1007/s10096-017-3048-y.
10. Eastment M.C., McClelland R.S. Vaginal microbiota and susceptibility to HIV. *AIDS.* 2018;32(6):687-698. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001768.
11. Coudray M.S., Madhivanan P. Bacterial vaginosis – A brief synopsis of the literature. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020;245:143-148. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2019.12.035.
12. Tikhomirov A.L., Sarsaniya S.I., Kazenashev V.V. Key aspects of treatment for bacterial vaginosis. *Doctor.ru.* 2020;19(8):86-90. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-86-90. (In Russ.)
13. Borovikov I.O., Kutsenko I.I., Rubinina E.R. et al. Prepregnancy preparation of women with mixed vaginal dysbiosis. *Russian Journal of Woman and Child Health.* 2019;2(2):113-119 DOI: 10.32364/2618-8430-2019-2-2-113-119. (In Russ.)
14. Faught B.M., Reyes S. Characterization and treatment of recurrent bacterial vaginosis. *J. Womens Health (Larchmt).* 2019;28(9):1218-1226. DOI: 10.1089/jwh.2018.7383.
15. Javed A., Parvaiz F., Manzoor S. Bacterial vaginosis: An insight into the prevalence, alternative treatments regimen and it's associated resistance patterns. *Microb. Pathog.* 2019;127:21-30. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.11.046.
16. Dmitruk V.S., Denisov A.A., Lushnikova P.A. Modern opportunities of effective combined treatment of vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Russian Journal of Dermatology and Venereology.* 2018;17(4):65-70. DOI: 10.17116/klin-derma20181704165. (In Russ.)

- матология и венерология. 2018;17(4):65-70. DOI: 10.17116/klindermat20181704165.
17. Ильина Т.С., Толордава Э.Р., Романова Ю.М. Взгляд на фаготерапию через 100 лет после открытия бактериофагов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2019;37(3):103-112. DOI: 10.17116/molgen201937031103.
 18. Dickey J., Perrot V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms *in vitro* // PLoS One. 2019;14(1):e0209390. DOI: 10.1371/journal.pone.0209390.
 19. Асланов Б.И. Бактериофаги – эффективные антибактериальные средства в условиях глобальной устойчивости к антибиотикам // Медицинский совет. 2015;13:106-110.
 20. Джиоев Ю.П., Злобин В.И., Саловарова В.П. и др. Анализ проблемы «супербактерий» и современные подходы к ее решению // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019;9(4):665-678. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-665-678.
 21. Полищук И.С., Алешукина И.С., Алешукина А.В. Анализ чувствительности поликомпонентных бактериофагов к условно-патогенным бактериям влагалища // Научный альманах. 2019;6-1(56):244-246.
 22. Инструкция по применению набора реагентов для исследования биоценоза урогенитального тракта у женщин методом ПЦР в режиме реального времени Фемофлор. URL: https://dna-technology.ru/sites/default/files/femoflor_ivd_b.pdf (дата обращения: 10.11.2023).
 17. Ilyina T.S., Tolordava E.R., Romanova Yu.M. Looking at phage therapy 100 years after the discovery of bacteriophages. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2019;37(3):103-112. DOI: 10.17116/molgen201937031103. (In Russ.)
 18. Dickey J., Perrot V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms *in vitro*. *PLoS One*. 2019;14(1):e0209390. DOI: 10.1371/journal.pone.0209390.
 19. Aslanov B.I. Bacteriophages are effective antibacterial agents in the context of global antibiotic resistance. *Medical Coincil*. 2015;13:106-110. (In Russ.)
 20. Dzhioev Y.P., Zlobin V.I., Salavarova V.P. et al. Analysis of the “superbacteria” issue and contemporary approaches to its solution. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(4):665-678. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-665-678. (In Russ.)
 21. Polishuk I.S., Aleshukina I.S., Aleshukina A.V. The sensitivity analysis of multi-component bacteriophage to the pathogenic bacteria of the vagina. *Science Almanac*. 2019;6-1(56):244-246. (In Russ.)
 22. Guidelines for assessment the biocenosis of the female urogenital tract using real-time PCR Femoflor. URL: https://dna-technology.ru/sites/default/files/femoflor_ivd_b.pdf (accessed 10.11.2023).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пилецкая Ульяна Владимировна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3299-177X.

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

Макаров Константин Юрьевич – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3574-6382.

Соколова Татьяна Михайловна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3435-3536.

ABOUT THE AUTHORS

Ulyana V. Piletskaya – Assistant, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3299-177X.

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

Konstantin Yu. Makarov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3574-6382.

Tatyana M. Sokolova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3435-3536.

Фармакокинетика антагониста брадикинина производного 1,4-бензодиазепин-2-она в эксперименте

А.Е. Алифоренко^{1, 2}, В.В. Быков^{1, 2}, А.В. Быкова², В.С. Мотов², К.Е. Кожуховский²,
В.И. Павловский², В.А. Хазанов², А.И. Венгеровский¹

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

²ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Производное 1,4-бензодиазепин-2-она (шифр – PAV-0056) в диапазоне доз 0.1–10 мг/кг оказывает в эксперименте выраженное анальгетическое действие как антагонист рецепторов брадикинина 1-го типа. Представляется актуальным доклиническое изучение фармакокинетики нового потенциального анальгетика при разных путях введения.

Ц е л ь . Оценить фармакокинетические параметры, биодоступность и трансмембранный транспорт производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Соединение PAV-0056 в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг вводили в 1% водном растворе поливинилпирролидона в желудок и в вену крысам-самцам (возраст 1.5–3 мес) стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г. С помощью метода масс-спектрометрии определяли концентрацию вещества PAV-0056 в плазме крови крыс через дискретные интервалы времени. Изучали фармакокинетические параметры и абсолютную биодоступность PAV-0056. Проницаемость молекул PAV-0056 через клеточный монослой изучали на 21-дневной культуре клеток колоректальной карциномы (Caco-2).

Р е з у л ь т а т ы . Абсолютная биодоступность производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 при введении в желудок крысам в дозе 0.1 мг/кг составляет 10.1 ± 6.1 %, в дозе 1 мг/кг – 2.2 ± 0.1 %, в дозе 10 мг/кг – 6.4 ± 0.8 %. Системная экспозиция AUC и максимальная концентрация C_{max} в плазме изменяются линейно с увеличением дозы PAV-0056 с 0.1 до 10 мг/кг (коэффициенты линейной детерминации R^2 составляют 0.9767 и 0.9976 соответственно). Соединение PAV-0056 всасывается из тонкого кишечника в течение 1 ч и элиминируется из плазмы в течение 5 ч. После введения в вену соединение PAV-0056 элиминируется в течение 0.5 ч. Анальгетик характеризуется общим клиренсом (CL_r) 83.16 л/кг/ч и не является субстратом гликопротеина P.

З а к л ю ч е н и е . Липофильное производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 при введении в желудок всасывается из тонкого кишечника пассивной диффузией с биодоступностью не более 10.1 ± 6.1 %. Линейная фармакокинетика и отсутствие взаимодействия с гликопротеином P позволяют оценивать соединение PAV-0056 как потенциальный неопиоидный анальгетик с хорошим профилем безопасности.

Ключевые слова: производное 1,4-бензодиазепин-2-она, крысы, фармакокинетические параметры, линейность фармакокинетики, абсолютная биодоступность, трансмембранный транспорт.

Образец цитирования: Алифоренко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Кожуховский К.Е., Павловский В.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И. Фармакокинетика антагониста брадикинина производного 1,4-бензодиазепин-2-она в эксперименте // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):124-137. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-124-137

Поступила в редакцию 21.03.2023
Прошла рецензирование 28.03.2023
Принята к публикации 18.04.2023

Автор, ответственный за переписку
Быков Владимир Валерьевич: ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.
E-mail: vladimir.b.1989@gmail.com

Received 21.03.2023
Revised 28.03.2023
Accepted 18.04.2023

Corresponding author
Vladimir V. Bykov: Siberian State Medical University, 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia.
E-mail: vladimir.b.1989@gmail.com

Pharmacokinetics of the bradykinin antagonist derivative 1,4-benzodiazepin-2-one in the experiment

A.E. Aliforenko^{1,2}, V.V. Bykov^{1,2}, A.V. Bykova², V.S. Motov², K.E. Kozhukhovskiy², V.I. Pavlovskiy², V.A. Khazanov², A.I. Vengerovskii¹

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

²Innovative Pharmacological Research LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The 1,4-benzodiazepin-2-one derivative (codenamed PAV-0056), in a wide range of low doses 0.1–10 mg/kg has a pronounced analgesic effect as bradykinin receptor type 1 antagonist. Preclinical study of the pharmacokinetics of a new potential analgesic with different routes of administration in appropriate doses seems to be relevant.

A i m . To evaluate the pharmacokinetic parameters, bioavailability and transmembrane transport of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative PAV-0056.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . PAV-0056 at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg was administered in a 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone into the stomach and vein of male Sprague Dawley rats (age 1.5–3 months) weighing 250–300 g. We determined the plasma concentration of PAV-0056 in the blood of rats at discrete time intervals using mass spectrometry. The pharmacokinetic parameters and absolute bioavailability of PAV-0056 were studied. The permeability of PAV-0056 through a cell monolayer was studied on a 21-day cell culture originated from of colorectal carcinoma (Caco-2).

R e s u l t s . The absolute bioavailability of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative PAV-0056 after administration into the stomach of rats at a dose of 0.1 mg/kg is $10.1 \pm 6.1\%$, at a dose of 1 mg/kg – $2.2 \pm 0.1\%$, at a dose of 10 mg/kg – $6.4 \pm 0.8\%$. Systemic exposure AUC and maximum plasma concentration C_{max} change linearly with increasing dose of PAV-0056 from 0.1 to 10 mg/kg (coefficients of determination R^2 are 0.9767 and 0.9976, respectively). PAV-0056 is absorbed from the small intestine within 1 h and eliminated from plasma within 5 h. After intravenous administration, PAV-0056 is eliminated within 0.5 h. The analgesic has a total clearance (Cl_T) of 83.16 l/kg/h and is not a P-glycoprotein substrate.

C o n c l u s i o n . The lipophilic derivative of 1,4-benzodiazepin-2-one, PAV-0056 after administration into the stomach is absorbed from the small intestine by passive diffusion with a bioavailability of no more than $10.1 \pm 6.1\%$. Linear pharmacokinetics and no interaction with P-glycoprotein allow PAV-0056 to be positioned as a non-opioid analgesic with a good safety profile.

Keywords: 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, rats, pharmacokinetic parameters, linearity of pharmacokinetics, absolute bioavailability, transmembrane transport.

Citation example: Aliforenko A.E., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Kozhukhovskiy K.E., Pavlovskiy V.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I. Pharmacokinetics of the bradykinin antagonist derivative 1,4-benzodiazepin-2-one in the experiment. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):124-137. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-124-137

ВВЕДЕНИЕ

На основе молекулярного дизайна и изучения связи «структура – аффинитет к бензодиазепиновым рецепторам – анальгетическая активность» была спрогнозирована и синтезирована новая молекула – метил-2-(7-нитро-2-оксо-5-фенил-3-пропокси-2,3-дигидро-1H-бензо[e][1,4]дiazепин-1-ил)ацетат (шифр PAV-0056). Согласно результатам молекулярного докинга соединение PAV-0056 является антагонистом брадикининового рецептора 1-го типа (B_1) [1].

Соединение PAV-0056 оказывает в эксперименте выраженное анальгетическое действие: препятствует развитию болевых реакций в ответ

INTRODUCTION

Based on molecular design and studying the “structure–affinity for benzodiazepine receptors – analgesic activity” relationship, a new molecule, methyl-2-(7-nitro-2-oxo-5-phenyl-3-propoxy-2,3-dihydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-1-yl)acetate (codenamed PAV-0056) was predicted and synthesized. According to the results of molecular docking, the PAV-0056 compound is bradykinin type 1 receptor (B_1) antagonist [1].

The compound PAV-0056 has a significant analgesic effect in the experiment: it prevents the development of pain in response to intraperitoneal injection of acetic acid solution, subplantar administra-

на внутривенную инъекцию раствора уксусной кислоты, субплантарное введение брадикинина и формалина [2]. В дозах 0.1–1 мг/кг это вещество не уступает по выраженности анальгетического эффекта диклофенаку натрия и трамadolu в эффективных дозах 10 и 20 мг/кг соответственно [2]. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 тормозит экссудацию при экспериментальном воспалении, вызванном брадикинином, не повреждает слизистую оболочку желудка в дозах до 50 мг/кг (500 терапевтических доз). Для соединения PAV-0056 не характерны эффекты производных 1,4-бензодиазепина – анксиолитический, седативный, снотворный и центральный миорелаксирующий, отсутствует аддиктивный потенциал [3].

Изучение фармакокинетики новых фармакологически активных веществ в эксперименте является обязательным этапом при разработке оригинальных лекарственных средств. Эти экспериментальные данные необходимы для прогнозирования пути введения и дозы лекарственного средства, разработки оптимальной лекарственной формы, обеспечивающей необходимую биодоступность и фармакологическую активность [4, 5].

Представляется актуальным изучение фармакокинетики нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она (PAV-0056) у крыс при разных путях введения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить фармакокинетические параметры, биодоступность и трансмембранный транспорт производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Соединение PAV-0056 предоставлено для исследования компанией-правообладателем. Для мышей и крыс эффективная доза (ED_{50}) соединения PAV-0056 в зависимости от модели боли составляет 0.01–1 мг/кг, полумлетальная доза (LD_{50}) – более 2000 мг/кг.

Эксперименты проводили на 160 свободных от патогенной флоры крысах-самцах стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г (возраст 1.5–3 мес). Крыс содержали в барьерном виварии в пластиковых клетках (по 5 особей) при температуре 20–26 °С, относительной влажности воздуха 30–70 %, воздухообмене 15 объемов/ч и регулируемом световом режиме (12:12 ч). Исследование одобрено локальными этическими комитетами, проведено в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите лабо-

tion of bradykinin and formalin [2]. At doses of 0.1–1 mg/kg, this substance is not inferior in the severity of the analgesic effect to diclofenac sodium and tramadol at effective doses of 10 and 20 mg/kg, respectively [2]. The 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 inhibits exudation in bradykinin-induced inflammation and does not damage the gastric mucosa at doses up to 50 mg/kg (500 curative doses). The PAV-0056 compound is not characterized by the effects of 1,4-benzodiazepine derivatives – anxiolytic, sedative, hypnotic and myorelaxant; there is no addictive potential [3].

Experimental studying the pharmacokinetics of new pharmacological active substances is a mandatory stage in the development of original drug. These experimental data are necessary to predict the route of administration and dose of a drug, and develop the appropriate dosage form that provides the necessary bioavailability and pharmacological activity [4, 5].

It seems relevant to study the pharmacokinetics of a new 1,4-benzodiazepin-2-one derivative (PAV-0056) in rats using different routes of administration.

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the pharmacokinetic parameters, bioavailability and transmembrane transport of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056.

MATERIALS AND METHODS

The PAV-0056 compound was provided for research by the copyright holder. For mice and rats, the effective dose (ED_{50}) of the PAV-0056 compound depending on the pain model is 0.01–1 mg/kg, the 50% lethal dose (LD_{50}) is more than 2000 mg/kg.

Experiments were carried out on 160 pathogen-free male Sprague Dawley rats weighing 250–300 g (age 1.5–3 months). The rats were kept in a vivarium in plastic cages (5 animals each) at 20–26°C, relative air humidity of 30–70%, air exchange of 15 volumes/h and controlled light conditions (12:12 h). The study was approved by Local Ethical Committees and conducted in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) in compliance with the principles and rules of Good Laboratory Practice. To exclude the influence of food on pharmacokinetics, animals fasted for 16 h before the start of the experiment.

The 1,4-benzodiazepin-2-one derivative (PAV-0056) was administered once into the stomach of rats at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg in 0.5 ml of a 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone (Ashland

раторных животных (Страсбург, 1986) с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики. Для исключения влияния пищи на фармакокинетику животные голодали в течение 16 ч до начала эксперимента.

Производное 1,4-бензодиазепин-2-она (PAV-0056) вводили однократно крысам в желудок в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг в 0.5 мл 1% водного раствора поливинилпирролидона (Ashland Inc., США). Дозы вещества PAV-0056 выбраны на основании результатов ранее проведенных исследований анальгетической активности (диапазон эффективных доз 0.1–1 мг/кг) и токсичности (максимальная переносимая доза при многократном введении 10 мг/кг). Соединение PAV-0056 вводили крысам внутривенно в дозе 0.004 мг/кг в 0.3 мл 1% водного раствора поливинилпирролидона. Ограничения в дозе вводимого в вену вещества связаны с его низкой растворимостью и предельно допустимым объемом жидкости для инъекций.

Для забора крови крыс помещали на 3 мин в камеру, постепенно заполняемую диоксидом углерода, фиксировали потерю рефлексов, брали кровь из полости сердца и выводили из эксперимента цервикальной дислокацией. При введении соединения PAV-0056 в желудок пробы крови брали до начала эксперимента и через 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960 и 1440 мин после введения вещества, при внутривенном введении – до инъекции и через 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480 и 1440 мин после введения. Временные точки выбраны на основании предыдущих пилотных исследований фармакокинетики соединения PAV-0056. В каждой временной точке забор крови производился у 5 крыс.

Образцы крови собирали в пробирки с гепарином натрия (50 ЕД/мл). Плазму получали центрифугированием при 1500 g в течение 15 мин, помещали в пробирки Eppendorf, немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при температуре –70 °С до проведения анализа.

Для определения концентрации производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в плазме использовали масс-спектрометр QTRAP 4500 (AB Sciex, США) в комплексе с жидкостным хроматографом Infinity 1260 (Agilent Technologies, Inc., США). Хроматографическое разделение проводили на аналитической колонке размером 75×2 мм, заполненной сорбентом ProntoSil-120-5-C18 AQ с диаметром частиц 5 мкм (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия) в режиме изократического элюирования. Для жидкостно-жидкостной экстракции биологические образцы перемешивали

Inc., USA). Doses of PAV-0056 were selected based on the results of previous studies of analgesic activity (effective dose range 0.1–1 mg/kg) and toxicity (maximum tolerated dose with multiple dose of 10 mg/kg). The compound PAV-0056 was administered intravenously to rats at a dose of 0.004 mg/kg in 0.3 ml of a 1% aqueous solution of polyvinylpyrrolidone. Limitations in the dose for intravenous administration are associated with its low solubility and the maximal permissible volume of liquid for injection.

To take blood samples, rats were placed for 3 min in a chamber gradually filled with carbon dioxide; loop of reflexes was recorded; blood was taken from the heart cavity, and the animals were euthanized by cervical dislocation. When PAV-0056 was administered into the stomach, blood samples were taken before the start of the experiment and 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960 and 1440 min after administration of the substance; intravenously – before administration and 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480 and 1440 min after administration. The time points were selected based on previous pilot studies of the pharmacokinetics of PAV-0056. At each time point, blood was taken from 5 rats.

Blood samples were collected in test tubes containing heparin sodium (50 U/ml). Plasma was obtained by centrifugation at 1500 g for 15 min, placed in Eppendorf tubes, immediately frozen in liquid nitrogen and stored at –70°C.

To determine the concentration of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 in plasma, a QTRAP 4500 mass spectrometer (AB Sciex, USA) was used in combination with an Agilent 1260 Infinity chromatograph (Agilent Technologies, Inc., USA). Chromatographic separation was performed using a 75×2 mm column filled with a ProntoSil-120-5-C18 AQ sorbent with a particle diameter of 5 μm (Institute of Chromatography EcoNova, LLC, Russia) in the isocratic elution mode. For liquid-liquid extraction, biological samples were mixed with 0.01 ml of 20% ortho-phosphoric acid solution and 1.5 ml of diethyl ester using a Vortex V-3 laboratory shaker (Elmi Ltd, Latvia). The aqueous organic phase of the sample was precipitated in an SL 16 centrifuge (Thermo Scientific Inc., Germany). The organic solvent was evaporated in a RVC 2-18 CDplus vacuum concentrator (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Germany).

Chromatographic analysis was performed under the following conditions: mobile phase – 0.1% solution of formic acid in acetonitrile (0.25 ml of 98% formic acid solution was diluted to a total volume

с 0.01 мл 20% раствора ортофосфорной кислоты и с 1.5 мл диэтилового эфира на лабораторном шейкере Vortex V-3 (Elmi Ltd, Латвия). Водно-органическую фазу образца осаждали в центрифуге SL 16 (Thermo Scientific Inc., Германия). Органический растворитель упаривали в ротационном вакуумном концентраторе RVC 2-18 CDplus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Германия).

Хроматографический анализ проводили при следующих условиях: подвижная фаза – 0.1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (0.25 мл 98% раствора муравьиной кислоты довели ацетонитрилом до общего объема 250 мл); скорость потока элюента – 0.4 мл/мин; объем вводимой пробы – 5 мкл; скорость ввода пробы – 200 мкл/мин; время анализа – 2 мин; среднее время удерживания соединения PAV-0056 составляло 0.60 ± 0.06 мин; тип ионизации – турбоэлектроспрей при атмосферном давлении (+); детектирование – режим множественных молекулярных реакций (MRM); анализируемые переходы – m/z 412.0 → 324.0; энергия соударения – 31 эВ; температура источника ионов – 350 °С; напряжение источника ионов – 5400 В. Методика количественного определения вещества PAV-0056 в плазме крыс была впервые разработана и валидирована перед исследованием согласно требованиям ЕМА и FDA [6, 7].

Хроматографические данные обрабатывали с помощью программного обеспечения MultiQuant 3.0 (AB Sciex, США). Концентрации PAV-0056 рассчитывали методом абсолютной калибровки по площади пика PAV-0056 ($y = kx + b$). На основании полученных значений концентраций были построены усредненные фармакокинетические профили.

Расчетный коэффициент распределения н-октанол/вода $\log P$ для PAV-0056 вычисляли с помощью программы ChemDraw Ultra v.12.0.2.1076 (PerkinElmer Inc., США).

Проницаемость соединения PAV-0056 через клеточный монослой изучали на 21-дневной культуре клеток колоректальной аденокарциномы (Caco-2) с помощью тест-системы MultiScreen (Millipore Corp., США). Культуру клеток получали из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Соединение PAV-0056 добавляли в концентрации 1 мкМ и в течение 2 ч изучали его транспорт в прямом (А–В, от апикальной к базолатеральной мембране, свободная диффузия) и обратном направлении (В–А, от базолатеральной к апикальной мембране, сво-

of 250 ml with acetonitrile); eluent flow rate – 0.4 ml/min; sample volume – 5 μ l; sample adding rate – 200 μ l/min; analysis time – 2 min; the average retention time of PAV-0056 – 0.60 ± 0.06 min; type of ionization – turbo electrospray at atmospheric pressure (+); detection – multiple molecular reaction mode (MRM); study transitions – m/z 412.0 → 324.0; collision energy – 31 eV; ion source temperature – 350 °С; ion source voltage – 5400 V. The PAV-0056 quantification method in rat plasma was first developed and validated before the study according to the requirements of the EMA and FDA [6, 7].

Chromatographic data were processed using MultiQuant 3.0 software (AB Sciex, USA). PAV-0056 concentrations were calculated using the absolute calibration method based on the peak area of PAV-0056 ($y = kx + b$). Based on concentration values we obtained, averaged pharmacokinetic profiles were plotted.

The n-octanol/water partition coefficient, $\log P$ for PAV-0056 was calculated using ChemDraw Ultra v.12.0.2.1076 (PerkinElmer Inc., USA).

The permeability of the PAV-0056 compound through a cell monolayer was studied on a 21-day cell culture originated from colorectal adenocarcinoma (Caco-2) using a MultiScreen plate (Millipore Corp., USA). The cell culture was obtained from the Russian collection of vertebrate cell cultures of the Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg). PAV-0056 was added at a concentration of 1 μ M, and its transport in the onward direction (A–B, from apical to basolateral membrane, free diffusion) and reverse direction (B–A, from basolateral to apical membrane, free diffusion and active transport with the participation of P-glycoprotein) was studied for 2 h [8]. PAV-0056 is a lipophilic aromatic compound, molecular weight of 411.4 Da, the molecule contains H-bonds and a positively charged atom of nitrogen at physiological pH values. Substances with these characteristics are substrates of P-glycoprotein [9]. In this regard, it was relevant to study whether the PAV-0056 compound is a substrate of this transporter.

As control compounds, we used a substance with low intestinal permeability – ranitidine, a compound with high permeability – propranolol and a P-glycoprotein substrate – rhodamine 123 (all by Sigma-Aldrich, USA). The effect of P-glycoprotein on the transmembrane molecular transport of PAV-0056 was assessed after adding the inhibitor of this transporter, cyclosporine A, to the medium of incubation [9].

бодная диффузия и активный транспорт с участием гликопротеина Р [8]. PAV-0056 является липофильным ароматическим соединением с молекулярной массой 411.4 Да, в молекуле присутствуют водородные связи и положительно заряженный атом азота при физиологических значениях pH. Вещества с такими характеристиками являются субстратами гликопротеина Р [9]. В связи с этим было актуальным изучить, является ли соединение PAV-0056 субстратом данного транспортера.

В качестве контрольных соединений использовали вещество с низкой кишечной проницаемостью – ранитидин, соединение с высокой проницаемостью – пропранолол и субстрат гликопротеина Р – родамин 123 (все – Sigma-Aldrich, США). Влияние гликопротеина Р на трансмембранный транспорт молекул PAV-0056 оценивали после добавления в среду инкубации ингибитора этого транспортера циклоспорина А [9].

Коэффициент кажущейся проницаемости (P_{app} , см/с) вычисляли по следующей формуле [10]:

$$P_{app} = \left(\frac{V_A}{\text{Area} \cdot \text{Time}} \right) \cdot \left(\frac{C_A(t)}{C_D(0)} \right),$$

где V_A – объем (мл) в акцепторной лунке, равный 0.25 для транспорта в прямом направлении А–В и 0.09 для транспорта в обратном направлении В–А;

Area – площадь поверхности, составляющая 0.11 см² для 96-луночного планшета;

Time – время транспорта (7200 с);

$C_A(t)$ – площадь под хроматографическим пиком аналита, нормированная на сигнал внутреннего стандарта толбутамида (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 100 нг/мл в акцепторной лунке после эксперимента;

$C_D(0)$ – площадь под хроматографическим пиком аналита, нормированная на сигнал внутреннего стандарта толбутамида в концентрации 100 нг/мл в донорной лунке.

Индекс асимметрии транспорта определяли как частное от деления коэффициента кажущейся проницаемости в обратном В–А и прямом А–В направлениях.

Фармакокинетические показатели рассчитывали с помощью программы Microsoft Excel (Microsoft, США). Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся – в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3).

The apparent permeability coefficient (P_{app} , cm/s) was calculated using the following formula [10]:

$$P_{app} = \left(\frac{V_A}{\text{Area} \cdot \text{Time}} \right) \cdot \left(\frac{C_A(t)}{C_D(0)} \right),$$

where V_A – volume (ml) in the acceptor well, equal to 0.25 for transport in the A–B and 0.09 for transport in the B–A directions;

Area – surface area of 0.11 cm² for a 96-well plate;

Time – transport time (7200 s);

$C_A(t)$ – area under the chromatographic peak of the analyte, normalized to the signal of the reference value of tolbutamide (Sigma-Aldrich, USA) at a concentration of 100 ng/ml in the acceptor well after the experiment;

$C_D(0)$ – area under the chromatographic peak of the analyte normalized to the signal of the internal standard tolbutamide at a concentration of 100 ng/ml in the donor well.

The transport asymmetry index was determined as the quotient of the apparent permeability coefficient in the B–A and A–B directions.

Pharmacokinetic parameters were calculated using Microsoft Excel (Microsoft, USA). Normally distributed data are presented as the mean and standard deviation ($M \pm SD$), non-normally distributed ones – as the median (Me) and interquartile range (Q1; Q3). Differences between samples were assessed in the first case using the Student *t*-test, and in the second case using the Mann-Whitney *U*-test [11]. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. The magnitude of the linear relationship (correlation) between two normally distributed variables was assessed using the coefficient of linear determination (R^2).

RESULTS AND DISCUSSION

After a single administration into the stomach of rats of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg, its plasma concentration reached a maximum (T_{max}) after 0.8–1.3 h and amounted to 1.4, 13 and 305 ng/ml, respectively (Fig. 1). This is consistent with the data on the pharmacodynamics of the substance obtained during previous studies. The PAV-0056 compound has a significant anti-inflammatory effect on the bradykinin-induced edema model 1.5 hours after administration and exhibits a maximum analgesic effect in the formalin test 15–45 min after administration [2]. The lower limit of quantification of the analytical method for PAV-0056 in rat plasma was 0.1 ng/ml. The analgesic effect of the PAV-0056 compound occurs at a plasma concentration of 1 ng/ml.

Различия между выборками оценивали в первом случае по *t*-критерию Стьюдента, а во втором – по *U*-критерию Манна – Уитни [11]. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Величина линейной связи (корреляция) между двумя переменными, распределение которых подчинялось нормальному закону распределения, оценивали с помощью коэффициента линейной детерминации (R^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После однократного введения крысам в желудок производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг его концентрация в плазме достигала максимума (T_{max}) через 0.8–1.3 ч и составляла 1.4, 13 и 305 нг/мл соответственно (рис. 1). Это согласуется с данными о фармакодинамике изучаемого вещества, полученными в ранее проведенных исследованиях. Соединение PAV-0056 обладает выраженным противовоспалительным действием на модели брадикининового отека через 1.5 ч после введения и проявляет максимальный анальгетический эффект в формалиновом тесте спустя

Systemic exposure (AUC – area under the concentration-time curve) of the PAV-0056 compound in administration at a dose of 0.1 mg/kg into the stomach was 2.0 (0.6; 50.9), at a dose of 1 mg/kg – 64.6 ± 23.1 , at a dose of 10 mg/kg – 1764 ± 641.3 ng \times h/ml (Table 1). The maximal plasma concentration C_{max} and systemic exposure, AUC increased linearly when the dose of PAV-0056 was increased to 100 curative doses. The coefficients of linear determination R^2 are close to 1 and amount to 0.9976 and 0.9767, respectively [12], which indicates the predictability of changes in concentration in response to an increase in studied dose range (Fig. 2 and 3). This is consistent with the dose dependence previously revealed of the analgesic effect of PAV-0056 in the formalin test [2].

In Fig. 4 shows the averaged pharmacokinetic profile of PAV-0056 in the plasma of rat after a single intravenous administration at a dose of 0.004 mg/kg.

The calculated initial plasma concentration of the PAV-0056 compound in rat after a single intravenous administration at a dose of 0.004 mg/kg was

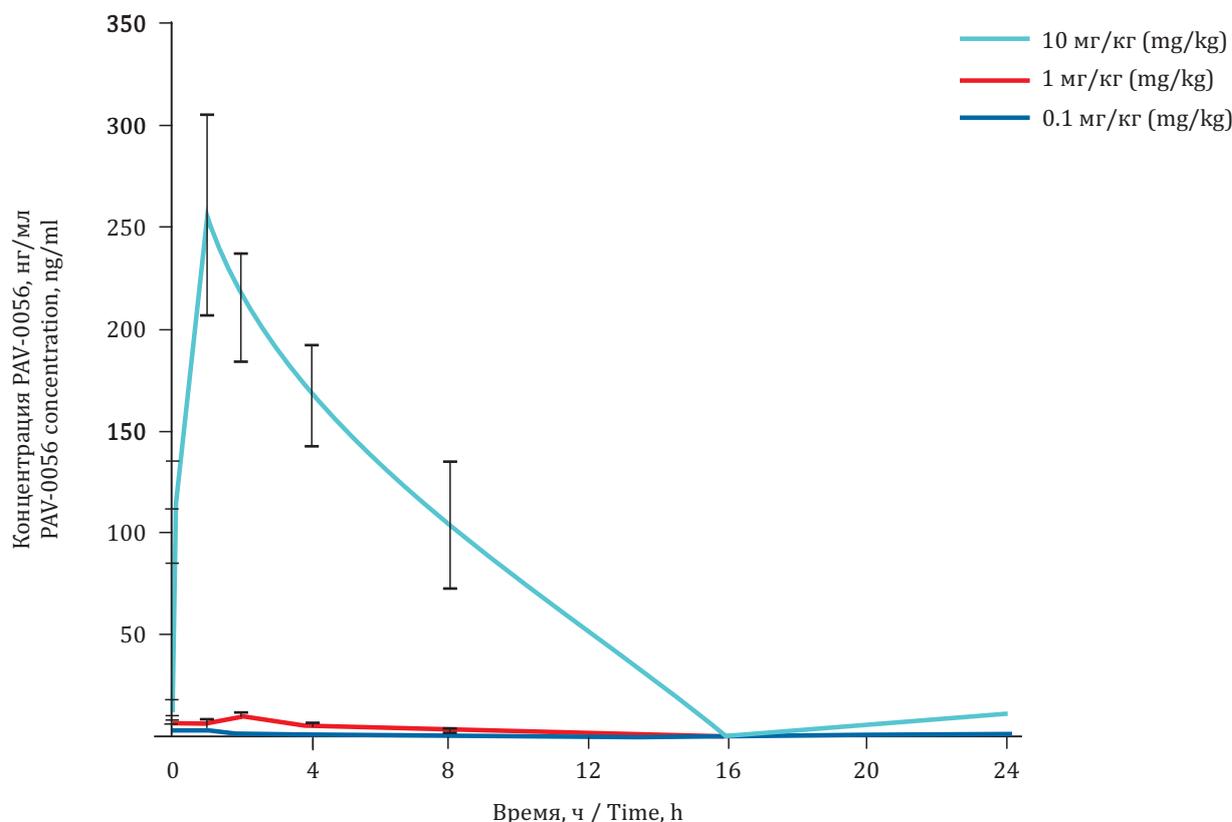


Рис. 1. Усредненные фармакокинетические профили производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в плазме крови крыс после однократного введения в желудок в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг ($n = 5$)

Fig. 1. Averaged pharmacokinetic profiles of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 in the blood plasma of rats after a single administration into the stomach at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg ($n = 5$)

Таблица 1. Фармакокинетические показатели производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 после однократного введения в желудок крысам в дозах 0,1, 1 и 10 мг/кг**Table 1.** Pharmacokinetic parameters of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 after a single administration into the stomach of rats at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg

Показатель Indicator	Доза PAV-0056, мг/кг / Dose of PAV-0056, mg/kg		
	0.1	1	10
Максимальная концентрация в плазме (C_{max}), нг/мл Maximal plasma concentration (C_{max}), ng/ml	1.4 (1.3; 14.9)*	13.0 ± 4.7*	304.9 ± 62.6
Время достижения максимальной концентрации (T_{max}), ч Time to reach the maximal concentration (T_{max}), h	0.8 (0.4; 1.3)	1.3 ± 0.7	1.3 ± 0.8
Площадь под кривой «концентрация – время» (AUC_{0-t}), нг × ч/мл Area under the concentration-time curve (AUC_{0-t}), ng × h/ml	2.0 (0.6; 50.9)*	64.6 ± 23.1*	1764.0 ± 641.3
Период полуэлиминации ($T_{1/2}$), ч Half-life ($T_{1/2}$), h	13.0 ± 6.1	3.5 ± 1.6**	4.9 ± 3.0**
Скорость всасывания C_{max}/AUC_{0-t} , ч Absorption rate C_{max}/AUC_{0-t} , h	0.67 (0.56; 1.11)	0.21 ± 0.08**	0.18 ± 0.06**

* Статистически значимые отличия от показателей при введении вещества PAV-0056 в дозе 10 мг/кг ($p < 0.05$).Statistically significant differences compared to the indicators in administration of PAV-0056 at a dose of 10 mg/kg ($p < 0.05$).** Статистически значимые отличия от показателей при введении вещества PAV-0056 в дозе 0.1 мг/кг ($p < 0.05$).Statistically significant differences compared to the indicators in administration of PAV-0056 at a dose of 0.1 mg/kg ($p < 0.05$).

15–45 мин после введения [2]. Нижний предел количественного определения аналитической методики для вещества PAV-0056 в плазме крыс составлял 0.1 нг/мл. Анальгетический эффект соединения PAV-0056 начинает проявляться уже при концентрации в плазме 1 нг/мл.

Системная экспозиция (AUC – площадь под кривой «концентрация – время») соединения PAV-0056 при введении в дозе 0.1 мг/кг крысам в желудок составляла 2.0 (0.6; 50.9), в дозе 1 мг/кг – 64.6 ± 23.1, в дозе 10 мг/кг – 1764 ± 641.3 нг × ч/мл (табл. 1). Максимальная концентрация C_{max} в плазме и системная экспозиция AUC при увеличении дозы вещества PAV-0056 до 100 терапевтических доз возрастали линейно. Коэффициенты линейной детерминации R^2 близки к 1 и составляют 0.9976 и 0.9767 соответственно [12], что указывает на предсказуемость изменения концентрации в ответ на увеличение дозы в исследованном диапазоне (рис. 2 и 3). Это согласуется с установленной ранее дозозависимостью анальгетического эффекта соединения PAV-0056 в формалиновом тесте [2].

Расчетная начальная концентрация соединения PAV-0056 в плазме крыс после однократного внутривенного введения в дозе 0.004 мг/кг составляла 66.4 (59.6; 70.7) нг/мл, показатель AUC был равен 13.8 (12.4; 17.1) нг × ч/мл, период полуэлиминации – 0.5 ± 0.4 ч (табл. 2).

На рис. 4 представлен усредненный фармакокинетический профиль вещества PAV-0056 в плазме крыс после однократного внутривенного введения в дозе 0.004 мг/кг.

66.4 (59.6; 70.7) ng/ml, AUC was 13.8 (12.4; 17.1) ng × h/ml, half-life – 0.5 ± 0.4 h (Table 2).

The molecule of PAV-0056 is a weak base; its structure does not contain radicals with acidic properties; at pH > 7, the substance is predominantly in a non-ionized state. The gastric emptying time in rats does not exceed 20 min [13], therefore, the rapid achievement of the maximal concentration (within 1 h) is due to simple diffusion of non-ionized molecules of PAV-0056 in the proximal small intestine.

The penetration rate of a substance through the small intestine epithelium depends on its lipophilicity. According to our data, compound PAV-0056 dissolves well in non-polar solvents. The n-octanol/water partition coefficient, log P is 3.51, which characterizes the PAV-0056 compound as lipophilic [14].

In an experiment with the Caco-2 cell culture, the rate of PAV-0056 transport in the A–B direction without cyclosporine A is comparable to that of the value of lipophilic propranolol (log P = 3.03 [15]) and significantly exceeds the value of the less lipophilic ranitidine (log P = 0.3 [16]) ($p < 0.05$). For the P-glycoprotein substrate, rhodamine 123, the asymmetry index is >2 (actual value is 29.2) without cyclosporine A and <2 (actual value is 1.29) after the addition of cyclosporine A (Table 3). For the PAV-0056 compound, the transport asymmetry index is 1.85. Consequently, the PAV-0056 substance does not undergo active transport from a cell and is not a substrate of P-glycoprotein [8].

Data obtained for Caco-2 cells suggest that the combined use of the analgesic, PAV-0056 with

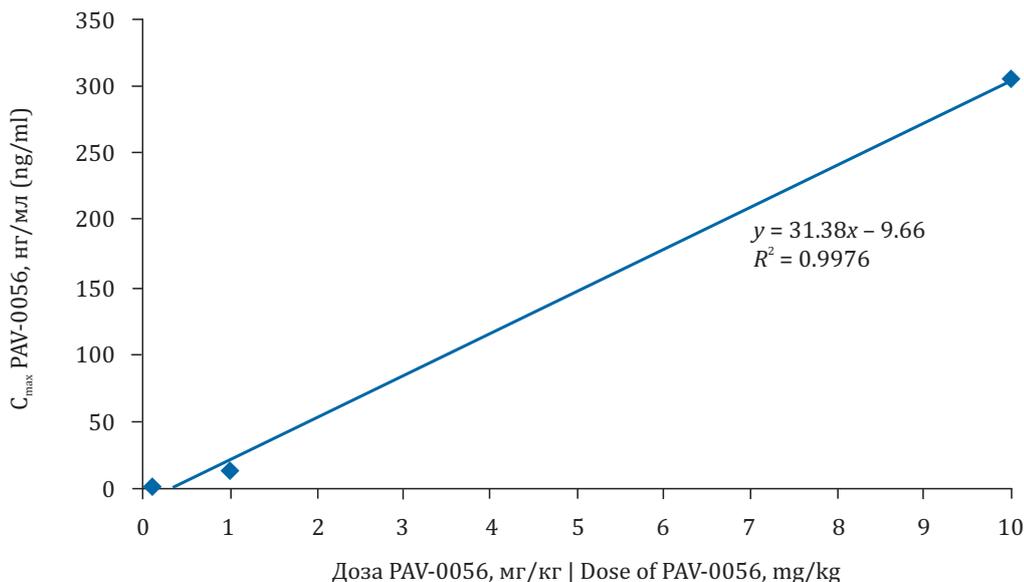


Рис. 2. Зависимость C_{\max} от дозы производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в плазме крови крыс после однократного введения в желудок в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг ($n = 5$)

Fig. 2. Dependence of C_{\max} on the dose of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 in the blood plasma of rats after a single administration into the stomach at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg ($n = 5$)

Молекула PAV-0056 является слабым основанием, в ее структуре отсутствуют радикалы с кислотными свойствами, вещество при $\text{pH} > 7$ находится преимущественно в неионизированном состоянии. Время эвакуации содержимого желудка у крыс не превышает 20 мин [13], поэтому быстрое достижение максимальной концентрации (в течение 1 ч) обусловлено простой диффузией неионизированных молекул PAV-0056 в проксимальном отделе тонкого кишечника.

P-glycoprotein inducers and inhibitors will not affect its plasma concentration and pharmacological effect. This is especially important for the treatment of pain in cancer patients taking anticancer drugs, most of which are P-glycoprotein inhibitors [9, 17]. Increased activity of P-glycoprotein in cancer should not reduce the analgesic activity of PAV-0056.

Judging by the high total clearance (Cl_T) value of 83.16 l/kg/h (a volume of plasma released from

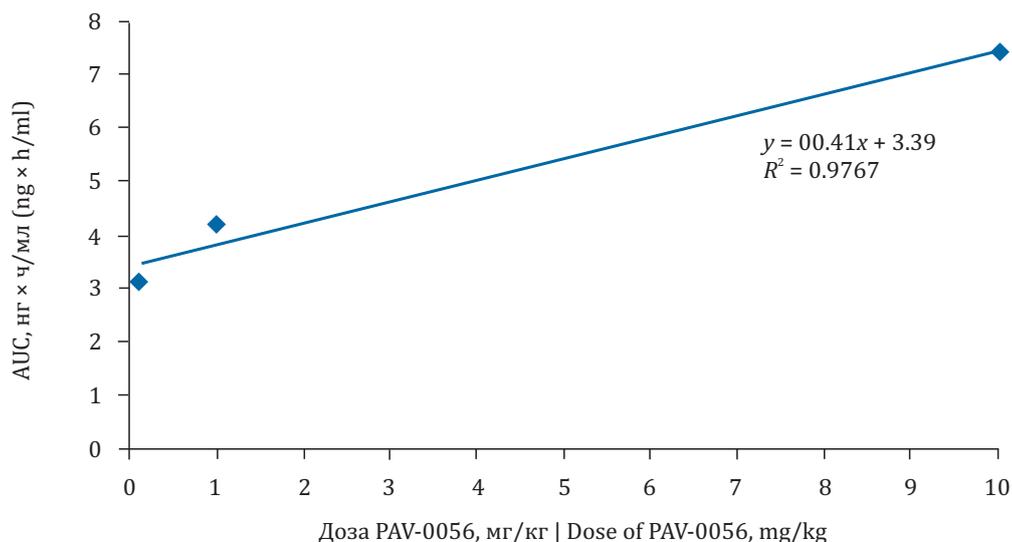


Рис. 3. Зависимость AUC от дозы производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 после однократного введения в желудок в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг ($n = 5$)

Fig. 3. Dependence of AUC on the dose of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 after a single administration into the stomach at doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg ($n = 5$)

Таблица 2. Фармакокинетические показатели производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 после однократного внутривенного введения крысам в дозе 0.004 мг/кг

Table 2. Pharmacokinetic parameters of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 after a single intravenous administration to rats at a dose of 0.004 mg/kg

Показатель / Indicator	Данные / Data
Начальная концентрация в плазме (C_0), нг/мл Initial plasma concentration (C_0), ng/ml	66.4 (59.6; 70.7)
Площадь под кривой «концентрация – время» (AUC_{0-t}), нг × ч/мл Area under the concentration-time curve (AUC_{0-t}), ng × h/ml	13.8 (12.4; 17.1)
Площадь под кривой «концентрация-время» ($AUC_{0-\infty}$), нг × ч/мл Area under the concentration-time curve ($AUC_{0-\infty}$), ng × h/ml	13.1 (11.2; 14.6)
Период полуэлиминации ($T_{1/2}$), ч / Half-life ($T_{1/2}$), h	0.5 ± 0.4

Скорость проникновения вещества через эпителий тонкого кишечника зависит от его липофильности. По нашим данным соединение PAV-0056 хорошо растворяется в неполярных растворителях. Расчетный коэффициент распределения н-октанол/вода $\log P$ равен 3.51, что характеризует соединение PAV-0056 как липофильное [14].

В эксперименте с культурой клеток Caco-2 скорость транспорта соединения PAV-0056 в направлении А–В без циклоспорина А сопоставима с показателем липофильного пропранолола ($\log P = 3.03$ [15]) и значительно превосходит показатель менее липофильного ранитидина ($\log P = 0.3$ [16]) ($p < 0.05$). Для субстрата гликопротеина Р родамина 123 индекс асимметрии составляет >2 (фактическое значение 29.2) в отсутствие циклоспорина А и <2 (фактическое значение 1.29) после добавления циклоспорина А

the substance every hour that significantly exceeds the volume of plasma in rats), PAV-0056, if administered intragastrically, is rapidly eliminated from the plasma, which is likely associated with the activity of plasma esterases (there is an ester bond in the structure of the PAV-0056 molecule) or the distribution of the analgesic into tissues and organs.

The apparent volume of distribution (V_d) of the PAV-0056 compound of 60 l/kg significantly exceeds the volume of body fluids of a rat. This also indicates possible plasma esterase-induced metabolism or extravascular distribution of PAV-0056.

The absorption rate of PAV-0056 decreased as the intragastrically administered dose increased from 0.1 to 10 mg/kg. This limitation is caused by a decrease in the completeness of dissolution of the substance administered in large quantities (the sub-

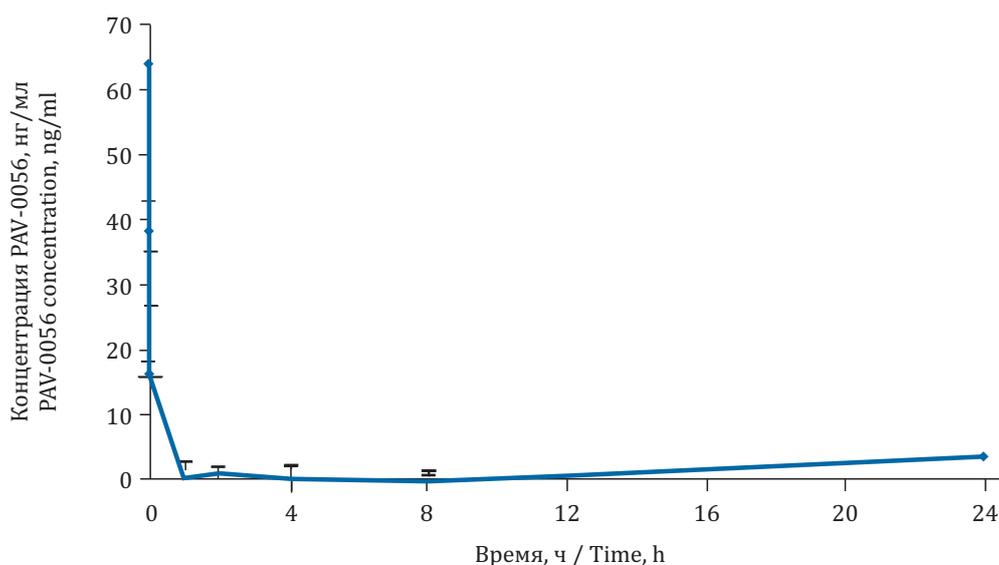


Рис. 4. Усредненный фармакокинетический профиль производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в плазме крови крыс после однократного внутривенного введения в дозе 0.004 мг/кг ($n = 5$)

Fig. 4. Averaged pharmacokinetic profile of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 in the blood plasma of rats after a single intravenous administration at a dose of 0.004 mg/kg ($n = 5$)

Таблица 3. Проницаемость и асимметрия транспорта веществ на модели Сасо-2
Table 3. Permeability and asymmetry of transport of the substance on the Caco-2 model

Вещество Substance	P_{app} А-В, $\times 10^{-6}$ см/с (cm/s)	P_{app} В-А, $\times 10^{-6}$ см/с (cm/s)	Индекс асимметрии транспорта Transport asymmetry index	Проницаемость Permeability
PAV-0056	20.5 \pm 0.52*	37.9 \pm 8.30	1.85	Высокая / High
PAV-0056 + циклоспорин А PAV-0056 + cyclosporine A	29.9 \pm 0.86	27.5 \pm 1.27	0.92	Высокая / High
Родамин 123 Rhodamine 123	0.31 \pm 0.01	8.94 \pm 0.46	29.2	Низкая / Low
Родамин 123 + циклоспорин А Rhodamine 123 + cyclosporine A	0.32 \pm 0.01	0.41 \pm 0.01	1.29	Низкая / Low
Ранитидин / Ranitidine	0.71 \pm 0.05	-	-	Низкая / Low
Пропранолол / Propranolol	16.7 \pm 0.98	-	-	Высокая / High

Примечания: P_{app} – коэффициент кажущейся проницаемости для транспорта в прямом (А-В) и обратном (В-А) направлениях.
 * Статистически значимые отличия по сравнению с показателем ранитидина ($p < 0.05$).
 Note: P_{app} – coefficient of apparent permeability for transport in the A-B and B-A directions.
 * Statistically significant differences compared to ranitidine ($p < 0.05$).

(табл. 3). Для соединения PAV-0056 индекс асимметрии транспорта составляет 1.85. Следовательно, вещество PAV-0056 не подвергается активному транспорту из клетки и не является субстратом гликопротеина Р [8].

Полученные на клетках Сасо-2 данные позволяют предположить, что совместное применение анальгетика PAV-0056 с индукторами и ингибиторами гликопротеина Р не окажет влияния на его концентрацию в плазме и фармакологический эффект. Это особенно важно для терапии болевого синдрома у пациентов с онкологическими заболеваниями, принимающих противоопухолевые лекарственные средства, большинство из которых являются ингибиторами гликопротеина Р [9, 17]. Повышенная активность гликопротеина Р при онкологических заболеваниях не должна уменьшать анальгетическую активность PAV-0056.

Судя по высокому значению общего клиренса (CL_T), равного 83.16 л/кг/ч (от вещества каждый час освобождается объем плазмы, значительно превышающий объем плазмы крысы), соединение PAV-0056 при введении в желудок быстро элиминируется из плазмы, что, вероятно, связано с действием эстераз плазмы (в структуре молекулы PAV-0056 есть сложноэфирная связь) или распределением анальгетика в ткани и органы.

Очевидный объем распределения (V_d) соединения PAV-0056 60 л/кг значительно превосходит объем жидких сред организма крысы. Это также указывает на возможный метаболизм под

stance is virtually water insoluble, the approximate volume of solvent required to dissolve 1 g of the substance is more than 10 000 ml).

The absolute bioavailability of the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 when administered intragastrically at a dose of 0.1 mg/kg is 10.1 \pm 6.1%, at a dose of 1 mg/kg – 2.2 \pm 0.1% , at a dose of 10 mg/kg – 6.4 \pm 0.8%. Low bioavailability may be a consequence of low gastrointestinal absorption of molecules of PAV-0056, presystemic elimination in intestinal or liver cells, and metabolism by plasma esterases [18].

CONCLUSION

The lipophilic derivative of 1,4-benzodiazepin-2-one, PAV-0056 administered into the stomach is absorbed from the small intestine by passive diffusion with a bioavailability of no more than 10.1 \pm 6.1%. A wide therapeutic range, absence of psychotropic effects, linear pharmacokinetics at doses up to 100 curative doses and no interaction with P-glycoprotein allow the 1,4-benzodiazepin-2-one derivative, PAV-0056 to be positioned as a potential non-opioid analgesic with a good safety profile.

Financing. The study was carried out with financial support.

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

действием эстераз плазмы или на распределение PAV-0056 во внесосудистом пространстве.

Скорость всасывания вещества PAV-0056 снижалась при увеличении вводимой в желудок дозы с 0.1 до 10 мг/кг. Такое ограничение вызвано уменьшением полноты растворения вещества, введенного в больших количествах (субстанция практически нерастворима в воде, примерный объем растворителя, необходимый для растворения 1 г субстанции, – более 10 000 мл).

Абсолютная биодоступность производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 при введении в желудок в дозе 0.1 мг/кг составляет 10.1 ± 6.1 %, в дозе 1 мг/кг – 2.2 ± 0.1 %, в дозе 10 мг/кг – 6.4 ± 0.8 %. Низкая биодоступность может являться следствием низкого всасывания молекул PAV-0056 в желудочно-кишечном тракте, пресистемной элиминации в клетках кишечника или печени, а также метаболизма эстеразами плазмы [18].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pavlovsky V.I., Tsybalyuk O.V., Martynyuk V.S. et al. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms // *Neurophysiol.* 2013;45:427-432.
2. Алифороенко А.Е., Быков В.В., Мотов В.С. и др. Анальгетическая активность антагониста рецепторов брадикинина – производного 1,4-бензодиазепин-2-она // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022;21(2S):69-70. (XXIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: сб. тезисов). DOI: 10.15829/1728-8800-2022-S2.
3. Алифороенко А.Е., Быков В.В., Мотов В.С. и др. Аддиктивный потенциал нового анальгетика – антагониста рецепторов брадикинина // *Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы III Всерос. науч. конф. Томск, 2022.* С. 6–7.
4. Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Шевченко Р.В. и др. Фармакокинетические закономерности в проявлении действия психотропных лекарственных средств // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2020;4:3-8. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-4-3-8.
5. Иванникова Е.В., Жердев В.П., Бойко С.С. и др. Исследование фармакокинетики и биодоступности в создании новых оригинальных лекарственных средств пептидной структуры и их оптимальных лекарственных форм // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2013;2:1-17.
6. European Medicines Agency. Guideline on Bioanalytical Method Validation. London, 21 Jul 2011. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf (дата обращения: 10.01.2023).
7. Bioanalytical Method Validation: Guidance for Industry. 2018. URL: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> (дата обращения: 10.01.2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липофильное производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 при введении в желудок всасывается из тонкого кишечника пассивной диффузией с биодоступностью не более 10.1 ± 6.1 %. Широкий терапевтический диапазон, отсутствие психотропных эффектов, линейная фармакокинетика в дозах вплоть до 100 терапевтических доз и отсутствие взаимодействия с гликопротеином Р позволяют позиционировать производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 как потенциальный неопиоидный анальгетик с хорошим профилем безопасности.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Pavlovsky V.I., Tsybalyuk O.V., Martynyuk V.S. et al. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms. *Neurophysiol.* 2013;45:427-432.
2. Aliforenko A.E., Bykov V.V., Motov V.S. et al. Analgesic activity of the bradykinin receptor antagonist – a derivative of 1,4-benzodiazepin-2-one. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2022;21(2S):69-70. (XXIX Russian National Congress “Man and Medicine”: collection of abstracts). DOI: 10.15829/1728-8800-2022-S2. (In Russ.)
3. Aliforenko A.E., Bykov V.V., Motov V.S. et al. (2022). Addictive potential of a new analgesic – a bradykinin receptor antagonist. In *Modern Medicinal Toxicology: Fundamental and Applied Aspects: proceedings of the III All-Russian Scientific Conference.* Tomsk, P. 6–7. (In Russ.)
4. Kolyvanov G.B., Litvin A.A., Shevchenko R.V. et al. Pharmacokinetic relationships in psychotropic drugs effects. *Farmakokinetika and Farmakodynamika.* 2020;4:3-8. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-4-3-8. (In Russ.)
5. Ivannikova E.V., Zherdev V.P., Boyko S.S. et al. Study the pharmacokinetics and bioavailability in the creation of new original drugs peptide structures and their optimum dosage forms. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2013;2:1-17. (In Russ.)
6. European Medicines Agency. Guideline on Bioanalytical Method Validation. London, 21 Jul 2011. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf (accessed 10.01.2023).
7. Bioanalytical Method Validation: Guidance for Industry. 2018. URL: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> (accessed 10.01.2023).
8. Jarc T., Novak M., Hevir N. et al. Demonstrating suitability of the Caco-2 cell model for BCS-based biowaiver

8. Jarc T., Novak M., Hevir N. et al. Demonstrating suitability of the Caco-2 cell model for BCS-based biowaiver according to the recent FDA and ICH harmonised guidelines // *J. Pharm. Pharmacol.* 2019;71(8):1231-1242. DOI: 10.1111/jphp.13111.
9. Якушева Е.Н., Черных И.В., Бирюкова А.С. Характеристика гликопротеина-P как белка транспортера лекарственных веществ // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. 2011;19(3):142-148. DOI: 10.17816/PAVLOVJ20113142-148.
10. Le Ferrec E., Chesne C., Artusson P. et al. In vitro models of the intestinal barrier. The report and recommendations of ECVAM Workshop 46 // *Altern. Lab. Anim.* 2001;29(6):649-668. DOI: 10.1177/026119290102900604.
11. Mishra P., Pandey C.M., Singh U. et al. Selection of appropriate statistical methods for data analysis // *Ann. Card. Anaesth.* 2019;22(3):297-301. DOI: 10.4103/aca.ACA_248_18.
12. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях: учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 304 с.
13. Chmelař V., Grossman V., Hais I.M., Demi F. Gastric retention and its changes in mice and rats during the first six days following X-irradiation // *Radiat. Res.* 1969;37(3):627-635. DOI: 10.2307/3572700.
14. Tshepelevitsh S., Kadam S.A., Darnell A. et al. LogP determination for highly lipophilic hydrogen-bonding anion receptor molecules // *Anal. Chim. Acta.* 2020;1132:123-133. DOI: 10.1016/j.aca.2020.07.024.
15. Calatayud-Pascual M.A., Sebastian-Morelló M., Balaguer-Fernández C. et al. Influence of chemical enhancers and iontophoresis on the in vitro transdermal permeation of propranolol: evaluation by dermatopharmacokinetics // *Pharmaceutics*. 2018.10(4):265. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040265.
16. Djabri A., Guy R.H., Delgado-Charro M.B. Transdermal iontophoresis of ranitidine: an opportunity in paediatric drug therapy // *Int. J. Pharm.* 2012;435(1):27-32. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.03.006.
17. Вдовин А.С., Максимчик П.В., Куликов А.В. и др. Ингибирование Р-гликопротеина стимулирует клеточную гибель в условиях, моделирующих гипоксию // Доклады Академии наук. 2017;472(3):345-349. DOI: 10.7868/So869565217030264.
18. Венгеровский А.И. Фармакология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 848 с.
- according to the recent FDA and ICH harmonised guidelines. *J. Pharm. Pharmacol.* 2019;71(8):1231-1242. DOI: 10.1111/jphp.13111.
9. Yakusheva E.N., Chernykh I.V., Biruikova A.S. Characteristic of P-glycoprotein as a drug peptide transporter. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2011;19(3):142-148. DOI: 10.17816/PAVLOVJ20113142-148. (In Russ.)
10. Le Ferrec E., Chesne C., Artusson P. et al. *In vitro* models of the intestinal barrier. The report and recommendations of ECVAM Workshop 46. *Altern. Lab. Anim.* 2001;29(6):649-668. DOI: 10.1177/026119290102900604.
11. Mishra P., Pandey C.M., Singh U. et al. Selection of appropriate statistical methods for data analysis. *Ann. Card. Anaesth.* 2019;22(3):297-301. DOI: 10.4103/aca.ACA_248_18.
12. Sergienko V.I., Bondareva I.B. (2006). *Mathematical Statistics in Clinical Research: Textbook*. M.: GEOTAR-Media. 304 p. (In Russ.)
13. Chmelař V., Grossman V., Hais I.M., Demi F. Gastric retention and its changes in mice and rats during the first six days following X-irradiation. *Radiat. Res.* 1969;37(3):627-635. DOI: 10.2307/3572700.
14. Tshepelevitsh S., Kadam S.A., Darnell A. et al. LogP determination for highly lipophilic hydrogen-bonding anion receptor molecules. *Anal. Chim. Acta.* 2020;1132:123-133. DOI: 10.1016/j.aca.2020.07.024.
15. Calatayud-Pascual M.A., Sebastian-Morelló M., Balaguer-Fernández C. et al. Influence of chemical enhancers and iontophoresis on the in vitro transdermal permeation of propranolol: evaluation by dermatopharmacokinetics. *Pharmaceutics*. 2018.10(4):265. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040265.
16. Djabri A., Guy R.H., Delgado-Charro M.B. Transdermal iontophoresis of ranitidine: an opportunity in paediatric drug therapy. *Int. J. Pharm.* 2012;435(1):27-32. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.03.006.
17. Vdovin A.S., Maximchik P.V., Kulikov A.V. et al. Inhibition of P-glycoprotein stimulates cell death under hypoxia-mimicking conditions. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2017;472:327-30. DOI: 10.1134/S1607672917010100.
18. Vengerovskii A.I. (2020). *Pharmacology: Textbook*. M.: GEOTAR-Media. 848 p. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Алифоренко Анастасия Евгеньевна – младший научный сотрудник ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия; аспирант кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. ORCID: 0000-0003-1656-8429.

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, начальник отдела фармакологических исследований ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия; старший преподаватель кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицин-

ABOUT THE AUTHORS

Anastasia E. Aliforenko – Junior Researcher, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia; Post-graduate Student, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1656-8429.

Vladimir V. Bykov – Cand. Sci. (Med.), Head, Pharmacological Research Department, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia; Senior Lecturer, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5145-2184.

Arina V. Bykova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8495-8560.

ский университет» Минздрава России, Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-5145-2184.

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-8495-8560.

Мотов Валерий Сергеевич – канд. биол. наук, научный сотрудник ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-0197-7521.

Кожуховский Кирилл Евгеньевич – руководитель группы хромато-масс-спектрометрии лаборатории аналитической химии отдела фармацевтических разработок ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0009-0007-1716-3825.

Павловский Виктор Иванович – д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник отдела фармацевтических разработок ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-4583-6245.

Хазанов Вениамин Абрамович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор ООО «Инновационные фармакологические разработки» (ООО «Ифар»), Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-8833-785X.

Венгеровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, и.о. заведующего кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. ORCID: 0000-0001-5094-3742.

Valeriy S. Motov – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Innovative Pharmacological Developments, LLC (Iphar LLC), Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0197-7521.

Kirill E. Kozhukhovskiy – Head, Chromatography-mass Spectrometry Group, Laboratory of Analytical Chemistry, Pharmaceutical Development Department, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia. ORCID: 0009-0007-1716-3825.

Victor I. Pavlovskiy – Dr. Sci. (Chem.), Leading Researcher, Pharmaceutical Development Department, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-4583-6245.

Veniamin A. Khazanov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director General, Innovative Pharmacological Research, LLC (Iphar, LLC), Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8833-785X.

Aleksandr I. Vengerovskii – Dr. Sci. (Med.), Professor, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, acting Head, Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0001-5094-3742.

Морфологические особенности повреждений, сформировавшихся от действия технического электричества в воде

З.В. Давыдова, Е.Ю. Калинина, Н.М. Аничков, П.Э. Лазарев, М.К. Смирнов, Е.А. Лебеденко, Р.А. Насыров

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

В статье представлен экспертный случай поражения техническим электричеством в воде (труп девушки с признаками термического ожога был обнаружен в ванной комнате, рядом находился подсоединенный к электрической сети телефон). Было проведено судебно-гистологическое исследование поврежденных тканей. Авторы изучили гистологическую картину электрометки и изменение дермы, вызванное действием электрического тока в водной среде. Выявили, что, во-первых, морфологическая картина электрометки, сформировавшейся в воде, определяется как электрохимическим повреждающим действием, связанным с развитием электролитических процессов в тканях, так и термическим воздействием; во-вторых, массивному травматическому воздействию подвержены не только кожа и подкожно-жировая клетчатка, но глубжележащие ткани, что должно учитываться при оказании медицинской помощи пострадавшим с несмертельной электротравмой.

Ключевые слова: электрометка, некроз, термическое действие электрического тока.

Образец цитирования: Давыдова З.В., Калинина Е.Ю., Аничков Н.М., Лазарев П.Э., Смирнов М.К., Лебеденко Е.А., Насыров Р.А. Морфологические особенности повреждений, сформировавшихся от действия технического электричества в воде // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):138-145. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-138-145

Morphological features of damage caused by technical electricity in water

Z.V. Davydova, E.Yu. Kalinina, N.M. Anichkov, P.E. Lazarev, M.K. Smirnov, E.A. Lebedenko, R.A. Nasyrov

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

ABSTRACT

The article presents an expert case of electrical injury from technical electricity in water (the corpse of a girl with signs of a thermal burn was found in the bathroom, nearby there was a telephone connected to the electrical network). A forensic histological examination of the damaged tissues was carried out. The authors studied the histological picture of the electrical mark and changes in the dermis caused by electrical current in water. It was revealed that, firstly, the morphological picture of the electrical mark in water is determined by both the electrochemical damaging effect associated with the development of electrolytic processes in tissues and thermal exposure; secondly, not only the skin and subcutaneous fat, but deeper tissues are subject to massive traumatic effects which should be taken into account when the treatment of patients with non-fatal electrical injuries.

Keywords: electrical mark, necrosis, thermal effect of electrical current.

Citation example: Davydova Z.V., Kalinina E.Yu., Anichkov N.M., Lazarev P.E., Smirnov M.K., Lebedenko E.A., Nasyrov R.A. Morphological features of damage caused by technical electricity in water. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):138-145. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-138-145

Поступила в редакцию 15.03.2023
Прошла рецензирование 29.03.2023
Принята к публикации 15.04.2023

Автор, ответственный за переписку
Давыдова Злата Вячеславовна: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» Минздрава России. 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2.
E-mail: zлата.davydova@rambler.ru

Received 15.03.2023
Revised 29.03.2023
Accepted 15.04.2023

Corresponding author
Zlata V. Davydova: St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2, Litovskay str., St. Petersburg, 194100, Russia.
E-mail: zлата.davydova@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Современную жизнь невозможно представить без использования электрического тока. Технический прогресс, повышение качества жизни людей неразрывно связаны с применением электрического тока в различных областях и сферах человеческой деятельности. Первый случай электротравмы от действия технического электричества при случайном соприкосновении с токоведущими частями описал Леруа де Мезикур в 1860 г. [1]. Число экспертиз случаев смертельного поражения электрическим током в практике экспертных подразделений Бюро судебно-медицинской экспертизы Санкт-Петербурга в 2017 г. составило 21, в 2018 г. – 14, в 2019 г. – 19, в 2020 г. – 19.

Спектр обстоятельств получения травм от действия высокого и низкого напряжения широк. У детей они, как правило, происходят в домашних условиях; у подростков – связаны с легкомысленными поступками вне родительского дома; у взрослых – являются следствием, прежде всего, ошибочных профессиональных действий или несчастных случаев на производстве. Это может быть результатом случайного контакта с высоковольтными кабелями, различных транспортных аварий или следствием незаконных действий (вандализма) [2].

Исследования зарубежных ученых показывают, что смертность от электрической травмы в начале XXI в. варьирует от 0 до 25 % в зависимости от тяжести поражения [3]. Даже кратковременный контакт с токонесущей поверхностью приводит к частичному или полному некрозу отдельных анатомических областей, развитию полиорганной недостаточности [4]. В наиболее тяжелых случаях гибель пострадавшего происходит из-за остановки сердечной деятельности или массивного кровотечения вследствие нарушения целостности стенок крупных сосудов [5]. Пострадавшие от электричества в наше время составляют около 5 % от поступивших в ожоговые центры по всему миру. Несмотря на небольшую долю электротравмы в структуре ожогового травматизма, она является наиболее тяжелой и разрушительной, приводя к инвалидности и высокой летальности. Электротравма преобладает у мужчин трудоспособного возраста и составляет около 1.7 % среди госпитализированных в ожоговые центры. Летальность зависит от возраста, общей площади поражения и площади глубокого ожога. При электротравме в оперативном лечении нуждаются 2/3 пострадавших, при этом 30.9 % пациентов требуются высокотехнологичные микрохи-

INTRODUCTION

Modern life cannot be imagined without the use of electric current. Technological advances and improving the quality of life of people are inextricably linked with the use of electric current in various fields and areas of human activity. The first case of electrical injury due to accidental contact with live parts was described by Leroy de Mésicourt in 1860 [1]. The number of examinations of electrocution cases in the practice of units of the Bureau of Forensic Medicine of St. Petersburg in 2017 was 21, in 2018 – 14, in 2019 – 19, in 2020 – 19.

The range of circumstances of high- and low-voltage electrical injuries is wide. In children, they usually occur at home; in adolescents – are associated with frivolous actions outside the house; in adults – are, first of all, a result of erroneous actions or industrial accidents. This may be the result of due to an accidental contact with high-voltage cables, various traffic accidents, or a consequence of illegal actions (vandalism) [2].

Studies by foreign authors show that mortality from electrical injury at the beginning of the 21st century varies from 0 to 25% depending on the severity of the injury [3]. Even short-term contact with a live surface leads to partial or complete necrosis of individual anatomical areas and the development of multiple organ failure [4]. In the most severe cases, a patient dies due to cardiac arrest or massive bleeding caused by large vessel walls' destruction [5]. Patients with electrical injury now account for about 5% of those admitted to burn centers around the world. Despite the small proportion of electrical injuries in the structure of burn injuries, it is the most severe and devastating, resulting in disability and high mortality. Electrical injury predominates among men of working age and accounts for about 1.7% among patients hospitalized in burn centers. Mortality depends on age, total body surface area damaged and area of deep burn. In case of electrical injury, 2/3 of patients need surgical treatment, with 30.9% of patients requiring high-tech microsurgical operations, and 29.1% requiring amputation [6, 7].

Electrical injury is formed either through direct contact with an electrical conductor, or from a step voltage arising from the voltage difference between two parts of the body touching the ground near a lying wire; its formation is also possible through an arc contact (in cases with high-voltage currents). According to the literature, at the site of contact of the current carrying conductor with the body, a skin lesion forms called an electrical mark. In typical cases, it is a round or oval-shaped dense vallate area of the skin (with a sunken bottom and roller-like

рургические операции, а 29.1 % — ампутации [6, 7].

Электротравма формируется либо при непосредственном контакте с проводником электрического тока, либо от «шагового напряжения», возникающего из-за разности потенциалов двух частей тела, касающихся земли вблизи лежащего провода; также возможно ее образование и через дуговой контакт (в случаях с токами высокого напряжения). Согласно данным литературы, в месте соприкосновения токонесущего проводника с телом формируется повреждение кожного покрова – электрометка. В типичных случаях она представляет собой округлой или овальной формы плотноватый участок кожи с западающим дном и валикообразно приподнятыми краями, с бледно-желтой, серо-белой или серо-желтой окраской. Формирование электрометки обусловлено механическим, тепловым, электрохимическим повреждающим действием тока на организм [1]. Тепловое воздействие возникает в результате трансформации электрической энергии в силу сопротивляемости тканей. Тепловому действию тока в большей степени подвержены ткани с низкой удельной электропроводностью. Именно в тканях, обладающих высоким сопротивлением (кожа, костная ткань), в соответствии с законом Джоуля – Ленца ($Q = I^2Rt$), происходит выделение наибольшего количества тепла. Количество выделяющегося тепла прямо пропорционально силе тока, электрическому сопротивлению тканей и длительности контакта. Чем выше напряжение, тем больше выделяется тепла в местах контакта, где и возникают ожоги. Сопротивляемость тканей является одним из главных факторов, обуславливающих тяжесть электроожога. Участками локализации электрических ожогов являются в основном места входа и выхода электричества на коже, так как она обладает высокой сопротивляемостью. Тепловая энергия, образуемая при трансформации электрической энергии, приводит к коагуляции и некротизации тканей. После преодоления сопротивляемости кожи электрическая энергия следует по пути наименьшего сопротивления – по нервной ткани и кровеносным сосудам, поражая окружающие ткани и приводя к общим изменениям. Электрохимические изменения, возникающие в результате действия электрического тока, приводят к агрегации форменных элементов крови, изменению баланса ионов вне и внутри клеток, поляризации белков. В результате у анода возникает коагуляционный некроз, а у катода – колликвационный. Механическое дей-

raised edges), of pale yellow, gray-white or gray-yellow color. The formation of an electrical mark is due to the mechanical, thermal, electrochemical damaging effect of electrical current on the body [1]. Thermal effect is a result of the transformation of electrical energy due to high tissue resistance. Tissues with a low electrical conductivity are more susceptible to the thermal effect of current. It is in tissues with high resistance (skin, bone tissue), in accordance with the Joule-Lenz law ($Q = I^2Rt$), that the greatest amount of heat is released. The amount of heat released is directly proportional to the current power, the electrical resistance of tissues and duration of contact. The higher the voltage, the more heat is released at the contact sites, where burns occur. Tissue resistance is one of the main factors determining the severity of an electrical burn. The localization for electrical burns are mainly the inlet and outflow points of electricity on the skin, as it has high resistance. Heat energy generated during the transformation of electrical energy leads to coagulation and necrosis of tissue. After overcoming the fastness of the skin, the electrical energy follows the path of least resistance – through nervous tissue and blood vessels, affecting surrounding tissues and leading to general changes. Electrochemical changes caused by the action of an electric current lead to blood cells aggregation, changes in the ionic balance outside and inside cells, and protein polarization. As a result, coagulative necrosis occurs at the anode, and colliquative necrosis – at the cathode. The mechanical action of current occurs due to the direct transition of electrical energy into mechanical energy. Mechanical action manifests itself in the formation of tissue dissection and ruptures, bone fractures.

However, there are also publications that indicate that electrical injury in aquatic environments is characterized by the formation of an atypical electrical mark as bubbles without liquid content, as well as electrogenic edema: density and pallor of the skin surrounding the area of the electrical mark. Macro- and microscopic examination of such an electrical mark does not reveal signs of grade III–IV thermal burns and thermal damage to hair in the area of the electrical mark, and there is no metallization of the skin [8].

AIM OF THE RESEARCH

Investigation of morphological changes and features of damage caused by electricity in water.

CASE REPORT

The corpse of a girl was brought to the Thanatology Department of the Bureau of Forensic Medicine

ствии тока возникает за счет прямого перехода электрической энергии в механическую. Проявляется механическое действие в формировании расслоений и разрывов тканей, переломов костей.

Однако имеются и публикации, в которых указывается, что для электрической травмы в водной среде характерно образование нетипичной электрометки в виде пузырей без жидкого содержимого, а также электрогенного отека: плотность и бледность кожи, окружающей область электрометки. При макро- и микроскопическом исследовании такой электрометки не выявляются признаки термических ожогов III–IV степени и термического поражения волос в зоне электрометки, отсутствует металлизация кожи [8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение морфологических изменений и особенностей повреждений, сформировавшихся от действия технического электричества в водной среде.

ЭКСПЕРТНЫЙ СЛУЧАЙ

В танатологическое отделение Бюро судебно-медицинской экспертизы Санкт-Петербурга поступил труп девушки. Из обстоятельств происшествия известно, что труп девушки был обнаружен матерью в ванной комнате, с признаками термического ожога, рядом находился подсоединенный к электрической сети телефон. На момент осмотра места происшествия вода была спущена, мобильный телефон и зарядка были изъяты следственными органами. По предварительным данным давность наступления смерти составляла около 10–14 ч.

При наружном исследовании трупа обнаружены следующие повреждения: на ладонной поверхности правой кисти кожа серовато-красновато-желтоватого цвета, между 1-м и 2-м пальцами кожа отсутствует, оголяя подсохшую желтоватую клетчатку и сухожилия. На передней поверхности груди слева в проекции VII межреберья, на фоне желтовато-красноватого подсохшего участка размером 8×5 см, определяется сероватое вспучивание эпидермиса, размером 6×3 см, без жидкого содержимого внутри.

Для выявления признаков, характерных для действия технического электричества, обязательным является проведение судебно-гистологического исследования. Кусочки кожи с повреждениями после стандартной гистологической проводки заливали в парафин, изготавливали

of St. Petersburg. The incident circumstances: girl's corpse was found by her mother in the bathroom, with signs of a thermal burn; nearby there was a telephone connected to the electrical network. At the time of the incident scene inspection, the water was drained, cell phone and his charger were seized by the investigative authorities. According to preliminary data, the duration of death was about 10–14 h.

A visual examination of the corpse revealed the following injuries: on the palmar surface of the right hand, the skin is grayish-reddish-yellowish in color; between the 1st and 2nd fingers, there is no skin, and dried yellowish tissue and tendons are exposed. On the anterior chest wall, in the left seventh intercostal space, in the midst of the yellowish-reddish dried area 8×5 cm in size, the grayish swelling of the epidermis 6×3 cm without liquid contents inside is determined.

To identify the signs characteristic of technical electricity action, it is mandatory to conduct a forensic histological examination. After standard histological processing, pieces of the skin with the lesions were embedded in paraffin; serial sections 0.3–0.5 μm thick were prepared, and stained with hematoxylin and eosin; Masson trichrome staining was additionally used (to identify necrotic changes in tissues). Changes in the epidermis and dermis in the area exposed to the damaging factor were studied in the specimens; then a comparative analysis of the identified microscopic signs was carried out. Samples were photographed using a Nikon DS-Fi3 digital camera mounted on a Nikon Eclipse 80i microscope.

A histological examination of the damaged skin on the anterior chest wall revealed a wave-like deformity of skeletal muscle bundles with focal loss of contour and cross-striation of fibers (Fig. 1).

Microscopic examination revealed signs of thermal effect of the current: deep extensive fibrinoid necrosis of the epidermis, dermis, hair follicles; flattening of the epithelial layer of the epidermis, with homogenization of layers and a site of coagulative necrosis (Fig. 2).

Areas of nuclear elongation in the basal, granular and lucid layers of the epidermis with palisade stigma, with single irregularly rounded voids formation, caused by electrochemical action of the electric current and associated with the ionic imbalance in tissues were observed (Fig. 3).

Masson trichrome staining revealed yellow diffuse areas in skeletal muscles at the site of the electrical mark. Thus, both routine hematoxylin and eosin staining and additional Masson trichrome staining demonstrated necrotic changes in the tissues (Fig. 4).

серийные срезы толщиной 0.3–0.5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином; дополнительно было использовано трихромное окрашивание по Массону (для выявления некротических изменений в тканях). В препаратах изучали изменения эпидермиса и дермы в области воздействия повреждающего фактора, затем провели сравнительный анализ выявленных микроскопических признаков. Образцы фотографировали с помощью цифровой камеры Nikon DS-Fi3, установленной на микроскопе Nikon Eclipse 80i.

При гистологическом исследовании дефекта кожи с передней поверхности грудной клетки выявлена волнообразная деформация пучков скелетных мышц с очаговой потерей контура и поперечной исчерченности волокон (рис. 1).

Микроскопическое исследование выявило признаки термического действия тока: глубокий обширный фибриноидный некроз эпидермиса, дермы, волосяных фолликулов, уплощение эпителиального пласта эпидермиса, гомогенизация слоев и участок коагуляционного некроза (рис. 2).

Наблюдались участки вытягивания ядер базального, зернистого и блестящего слоев эпидермиса с образованием фигур «частокола», с единичными неправильно-округлыми пустотами, что обусловлено электрохимическим дей-

Analysis of the data obtained allowed us to conclude that the morphological picture of the electric mark due to the action of electrical current in water is determined by both the electrochemical damage associated with the development of electrolytic processes in tissues and thermal effects. It is worth noting that not only the skin and subcutaneous fat, but the deeper tissues are subject to massive traumatic effects.

CONCLUSION

For the electrical mark due to the action of technical electricity in both aquatic and ordinary environments, the characteristic microscopic signs are cell elongation, presence of bubbles inside the stratum corneum, and detachment of epidermis from dermis. The presented case showed that the specificity of the manifestation of the electrochemical and thermal damaging effects of electrical current in the aquatic environment is determined not only by the depth of the coagulative necrosis itself, but also by the damage to surrounding tissues which is characterized by a deep spread of necrosis in soft tissues, which indeed should not remain unaddressed in the treatment of patients with non-fatal electric injury.

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

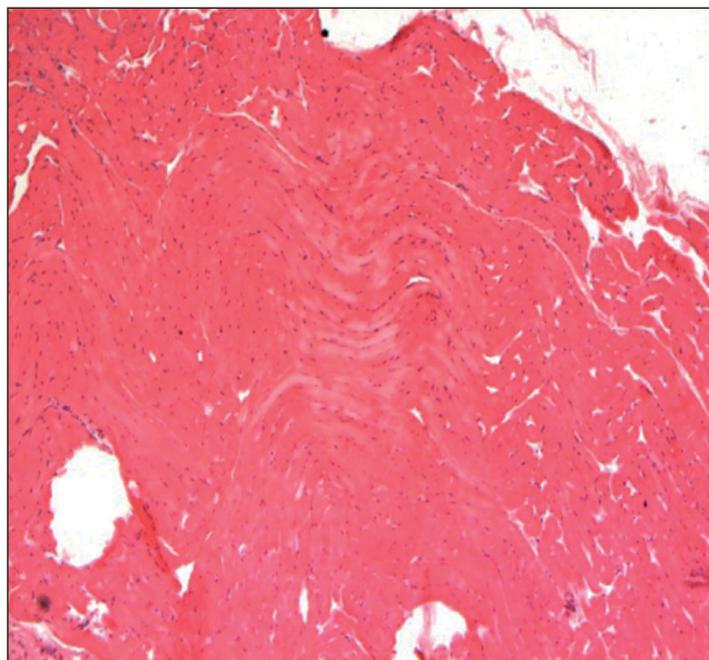


Рис. 1. Электрорезка. Волнообразная деформация пучков скелетных мышц с очаговой потерей контура и поперечной исчерченности волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение (ув.) $\times 100$

Fig. 1. The electrical mark. The wave-like deformity of skeletal muscle bundles with focal loss of contour and cross-striation of fibers. Hematoxylin and eosin staining. Magnification (magn.) $\times 100$

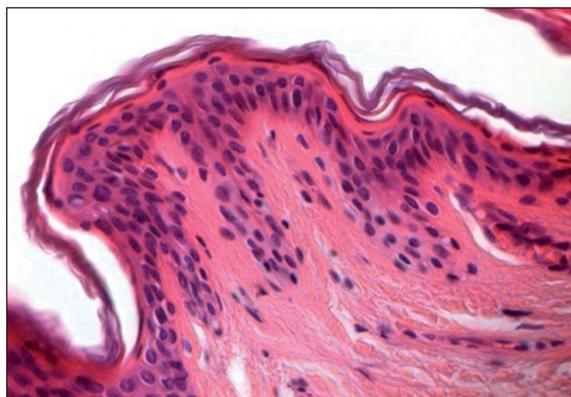


Рис. 2. Электрорезка. Вытягивание ядер клеток эпидермиса. Фигуры «щеток» или «частокола» в зоне прохождения тока. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$
Fig. 2. The electrical mark. Epidermal nuclear elongation. Brush- or palisade-shaped epithelial cells in the area exposed to electric current. Hematoxylin and eosin staining. Magn. $\times 200$

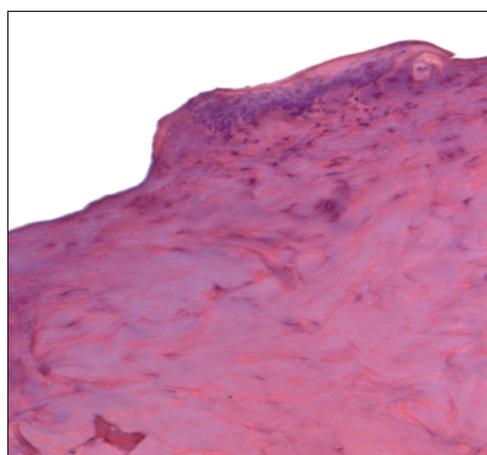


Рис. 3. Электрорезка. Глубокий обширный фибриноидный некроз эпидермиса, дермы, волосяных фолликулов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$
Fig. 3. The electrical mark. Deep extensive fibrinoid necrosis of the epidermis, dermis, hair follicles. Hematoxylin and eosin staining. Magn. $\times 100$

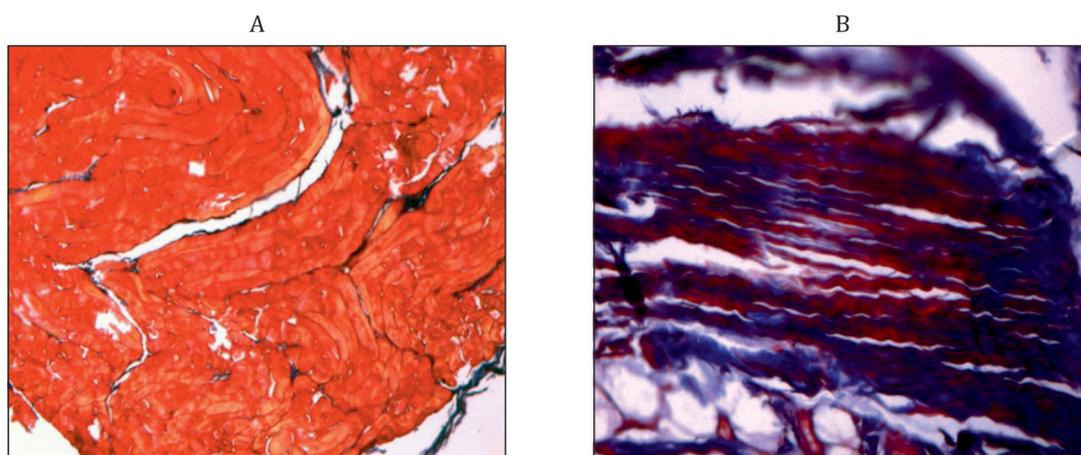


Рис. 4. Мышечная ткань с передней поверхности грудной клетки. Некроз отдельных скелетных мышечных волокон, фуксинофильные участки некроза соединительной ткани: А – окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 50$; В – трихромное окрашивание по Массону, ув. $\times 400$
Fig. 4. Muscle tissue from the anterior chest wall. Necrosis of individual skeletal muscle fibers, fuchsinophilic areas of connective tissue necrosis: A – hematoxylin and eosin staining, magn. $\times 50$; B – Masson trichrome staining, magn. $\times 400$

ствием тока, связанным с нарушением ионного равновесия в тканях (рис. 3).

При трихромном окрашивании по Массону в скелетных мышцах в проекции формирования электротравмы обнаружены диффузные рассеянные участки желтого цвета. Таким образом, и рутинная окраска гематоксилином и эозином, и дополнительное окрашивание по Массону продемонстрировали некротические изменения в тканях (рис. 4).

Анализ полученных данных позволил заключить, что морфологическая картина электротравмы, сформировавшейся от действия электрического тока в воде, определяется как электрохимическим повреждающим действием, связанным с развитием электролитических процессов в тканях, так и термическим воздействием. Стоит отметить, что массивному травматическому воздействию подвержены не только кожа и подкожно-жировая клетчатка, но глубже лежащие ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Назаров Г.Н., Николенко Л.П. Судебно-медицинское исследование электротравмы. М.: Фолиум, 1992. С. 6–78.
2. Соколов В.А., Степаненко А.А., Петрачков С.А., Адмакин А.Л. Эпидемиология поражений электрическим током: электротравма и электроожоги (обзор иностранных публикаций) // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2014;(4):26-33. DOI: 10.25016/2541-7487-2014-0-4-26-33.
3. Luz D.P., Millan L.S., Alessi M.S. et al. Electrical burns: a retrospective analysis across a 5-year period // Burns. 2009;35(7):1015-1019.
4. Ahmad I., Akhtar S., Rashidi E. et al. Electrical burns in children: an experience // Indian J. Burns. 2012;20(1):30-35. DOI: 10.4103/0971-653X.111778.
5. Opara K.O., Chukwuanukwu T.O.G., Ogbonnaya I.S., Nwadinigwe C.U. Pattern of severe electrical injuries in a Nigerian regional burn centre // Niger. J. Clin. Pract. 2006;9(2):124-127.
6. Спиридонова Т.Г., Жиркова Е.А., Сачков А.В. и др. Электротравма: характеристика пострадавших, методы оперативного лечения, микрофлора ран // Медицинский алфавит. 2018;3(28):59-62.
7. Сидоров А.И. О статистике электротравматизма. XXI век // Техносферная безопасность. 2021;6(2):180-188. DOI: 10.21285/2500-1582-2021-2-180-188.
8. Пиголкин Ю.И., Сквородников С.В., Дубровин И.А. Судебно-медицинская диагностика электротравмы при поражении техническим электричеством в водной среде // Судебно-медицинская экспертиза. 2014;57(3):19-21.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для электротравмы, сформировавшейся от действия технического электричества как в водной, так и в обычной среде, характерными микроскопическими признаками являются удлинение клеток, наличие пузырей внутри рогового слоя, отслаивание эпидермиса от дермы. Представленный экспертный случай показал, что специфичность проявления электрохимического и термического повреждающего действия электрического тока в водной среде обусловлена не только глубиной самого коагуляционного некроза, но и поражением окружающих тканей, для которого характерно глубокое распространение некроза в мягких тканях, что, безусловно, не должно оставаться без внимания при оказании медицинской помощи пострадавшим с несмертельной электротравмой.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Nazarov G.N., Nikolenko L.P. (1992). *Forensic Examination of Electrical Injury*. Moscow: Folium. P. 6–78. (In Russ.)
2. Sokolov V.A., Stepanenko A.A., Petrachkov S.A., Admakin A.L. Epidemiology of electric shock: electrical injury and electrical burns (review of foreign publications). *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2014;(4):26-33. DOI: 10.25016/2541-7487-2014-0-4-26-33. (In Russ.)
3. Luz D.P., Millan L.S., Alessi M.S. et al. Electrical burns: a retrospective analysis across a 5-year period. *Burns*. 2009;35(7):1015-1019.
4. Ahmad I., Akhtar S., Rashidi E. et al. Electrical burns in children: an experience. *Indian J. Burns*. 2012;20(1):30-35. DOI: 10.4103/0971-653X.111778.
5. Opara K.O., Chukwuanukwu T.O.G., Ogbonnaya I.S., Nwadinigwe C.U. Pattern of severe electrical injuries in a Nigerian regional burn centre. *Niger. J. Clin. Pract.* 2006;9(2):124-127.
6. Spiridonova T.G., Zhirkova E.A., Sachkov A.V. et al. Electrical injury: characteristic of victims, methods of surgical treatment, microflora of wounds. *Medical Alphabet*. 2018;3(28):59-62. (In Russ.)
7. Sidorov A.I. On the statistics on electrical injuries. XXI century. *Technosphere Safety*. 2021;6(2):180-188. DOI: 10.21285/2500-1582-2021-2-180-188. (In Russ.)
8. Pigolkin Yu.I., Skovorodnikov S.V., Dubrovin I.A. Forensic-medical diagnostics of an electrical mark resulting from the injury inflicted by technical electricity in the aqueous environment. *Forensic Medical Expertise*. 2014;57(3):19-21. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Zlata V. Davydova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with a course

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Давыдова Злата Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-6673-8230.

Калинина Елена Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0001-7077-3584.

Аничков Николай Мильевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. РАН, заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0003-1834-7881.

Лазарев Павел Эдуардович – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-4731-8572.

Смирнов Матвей Константинович – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID 0000-0002-6245-7968.

Лебеденко Евгений Александрович – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-6054-200X.

Насыров Руслан Абдуллаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0001-8120-2816.

of Forensic Medicine, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-6673-8230.

Elena Yu. Kalinina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with a course of Forensic Medicine, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0001-7077-3584.

Nikolay M. Anichkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponded Member of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Professor, Department of Pathological Anatomy with a course of Forensic Medicine, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0003-1834-7881.

Pavel E. Lazarev – 6-year Student, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-4731-8572.

Matvey K. Smirnov – 6-year Student, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID 0000-0002-6245-7968.

Evgeniy A. Lebedenko – 6-year Student, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-6054-200X.

Ruslan A. Nasyrov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy with a course of Forensic Medicine, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0001-8120-2816.

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: https://jsms.ngmu.ru/zayavlenie_jsms.doc);

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. www.ngmu.ru); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также предо-

ставляются сведения о каждом из авторов: фамилия, 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